

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Уральский федеральный университет  
имени первого Президента России Б. Н. Ельцина»

На правах рукописи



**Можаровская Полина Николаевна**

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРНЫХ  
АНАЛОГОВ ТРИАЗАВИРИНА® – НИТРОТРИАЗОЛОТРИАЗИНОВ.  
МЕТОДОЛОГИЯ КОМПЛЕКСНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВЕРОЯТНЫХ  
МЕХАНИЗМОВ ИХ ЭЛЕКТРОПРЕВРАЩЕНИЙ**

1.4.2. Аналитическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Екатеринбург – 2024

Работа выполнена на кафедре аналитической химии Химико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина»

**Научный руководитель:**

доктор химических наук, профессор,  
**КОЗИЦИНА Алиса Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

**СЛЕПЧЕНКО Галина Борисовна**, доктор химических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», профессор отделения химической инженерии инженерной школы природных ресурсов;

**СУПРУН Елена Владимировна**, доктор биологических наук, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории электрохимических методов кафедры аналитической химии химического факультета;

**ПОРФИРЬЕВА Анна Вениаминовна**, кандидат химических наук, доцент, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», доцент кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова

Защита состоится «02» декабря 2024 года в 14 часов 00 минут на заседании диссертационного совета УрФУ 2.6.02.07 по адресу: 620062, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, И-420 (зал Ученого совета).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина»:

<https://dissovet2.urfu.ru/mod/data/view.php?id=12&rid=6419>

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Семенищев Владимир Сергеевич

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Современные исследования демонстрируют, что доля оригинальных препаратов, зарегистрированных в мире, крайне мала и не превышает 5% от общего числа фармпродукции. При этом потребность в создании новых лекарственных средств (ЛС) неуклонно увеличивается в связи с непрекращающимся ростом заболеваний различной природы. Появление новых штаммов вирусов и развитие резистентности у уже известных вирусов к существующим ЛС делают необходимым создание оригинальных препаратов, обладающих большей биологической активностью и широким спектром действия.

Известно, что разработка нового ЛС является финансово затратным и длительным процессом, включающим в себя, помимо синтеза соединений и проведения комплекса физико-химических исследований по доказательству их структуры, этапы доклинических и клинических испытаний. Обладание информацией о предварительной оценке возможной биологической активности не только уже синтезированных, но и планируемых соединений, является значимым для более быстрого поиска потенциального ЛС. Сведения, полученные с использованием метода молекулярного докинга, набирающего популярность в сфере цифровых технологий, не всегда прогнозируемые. Поскольку одной из трудностей, возникающих при его проведении, является учет мультипараметричности рассматриваемых систем, например, взаимодействия интермедиатов вещества с сайтами связывания белка, а не его исходной молекулы.

Разработка подхода для комплексного изучения возможных превращений соединений с использованием современных инструментальных и цифровых методов, возможно, приблизит исследователей к пониманию связи между биологической активностью, физико-химическими свойствами вещества и структурой молекулы, что, в свою очередь, позволит химикам-синтетикам осуществлять направленный синтез соединений с ценными биологическими свойствами. В настоящее время в литературе не предложено подобного способа комплексного исследования веществ. Поэтому предлагается при разработке ЛС использовать методологию, основанную на сочетании применения как инструментальных, так и расчетных методов (квантово-химических, молекулярного докинга, молекулярной динамики) для оперативного получения результатов, которые с большей степенью вероятности будут коррелировать с данными, полученными в ходе биологических испытаний.

Одними из методов, позволяющих приблизиться к пониманию механизма действия потенциального ЛС (основное вещество которого способно подвергаться редокс-превращениям), являются электрохимические методы исследования. Благодаря этому становится выполнимым приближенное моделирование некоторых биологических процессов, таких как «мягкое» окисление-восстановление молекул с образованием промежуточных продуктов радикальной природы, аналогично тому, как это происходит в организме человека. Кроме того, ЭХМИ в тандеме со спектроскопией электронного парамагнитного резонанса способствуют установлению наличия и структуры парамагнитных радикальных частиц. Препаративный электролиз совместно с высокоэффективной жидкостной хроматографией, масс-спектроскопией высокого разрешения позволяет получить и идентифицировать промежуточные и конечные продукты редокс-реакции.

В литературе остается малоосвещенным вопрос о конкретных этапах пути превращения веществ, при этом инструментальные методы дают основания к их идентификации. Однако в настоящее время и этого становится уже недостаточно для описания полных сложных метаболических последовательностей. В связи с этим для более детального и обширного понимания способов преобразования соединений используются

квантово-химические расчеты, молекулярный докинг, метод классической молекулярной динамики. Предлагаемая сочетанная методология, включающая инструментальные и расчетные методы, позволит разносторонне исследовать превращения веществ и осуществлять направленный эффективный поиск биологически активных «соединений-лидеров».

В то же время электрохимические методы анализа, в частности вольтамперометрические, дают возможность разрабатывать простые, экспрессные, чувствительные методики количественного определения электрохимически активных соединений с использованием недорогого и портативного инструментария для контроля качества продукции на производстве, не уступающие широко используемому в настоящее время методу ВЭЖХ. Тогда как в Государственной фармакопее Российской Федерации использование вольтамперометрии для определения веществ практически не представлено. Тем не менее среди зарубежных авторов наблюдается тенденция к использованию вольтамперометрии как альтернативы ВЭЖХ. Фактически метод ВЭЖХ является высокоавтоматизированным и вторым по значимости в контроле качества объектов фармации, но в то же время – дорогостоящим, длительным, требующим высококвалифицированного обслуживающего персонала, а также использования большого количества токсичных растворителей.

Применение нитрогетероциклических и нитроароматических соединений в качестве действующего вещества в ЛС различного действия остается востребованным. Несмотря на то, что такие структуры являются биологически активными и широко применяемыми, механизм их действия в настоящее время до конца не изучен. Одной из причин, обуславливающих биологические свойства нитросоединений, может являться наличие интермедиатов радикальной природы, образующихся в результате восстановления нитрогруппы.

В ряде исследовательских работ представлена связь между биологической активностью нитросоединений и значениями либо потенциала первого пика восстановления, либо потенциала переноса первого электрона, приводящего к образованию радикалов. Показано, что на их возникновение оказывают влияние сферические затруднения, вызванные заместителями в структуре, что, вероятно, влияет на их биологический эффект. Впрочем, этой информации недостаточно для предварительной оценки биологической активности всего многообразия возможных органических нитросоединений. Поскольку на путь электропревращения таких веществ влияет как структура, так и окружение вещества. В связи с этим требуется индивидуальный, но при этом комплексный подход при интерпретации вероятного пути превращения для каждой оригинальной молекулы.

Таким образом, применение методологии комплексного исследования превращений ряда оригинальных соединений не только даст возможность для понимания вероятной взаимосвязи «структура – физико-химические свойства – биологическая активность», а также выявления нескольких наиболее биологически активных соединений, которые в дальнейшем выйдут на следующие этапы создания ЛС, но и позволит своевременно создавать простые, чувствительные методики количественного определения. В частности, ЭХМИ могут быть успешно применены как для исследований электропревращений соединений, так и для надежного их определения в фармацевтических препаратах.

Работа была выполнена при финансовой поддержке: Российского фонда фундаментальных исследований (проект No.19-29-08015 мк), Министерства науки и высшего образования Российской Федерации проект № FEUZ-2020-0058 и FEUZ-2023-0021 (№ 075-03-2023-006 от 16.01.2023).

### Степень разработанности темы исследования

Структурное сходство азоло[5,1-с][1,2,4]триазинов с известными противовирусными препаратами делает их перспективным базисом для формирования на их основе соединений с полезной биологической активностью. «Соединением-лидером» из данного класса является Триазавирин® (TZV) (натриевая соль 3-нитро-4-оксо-7-метилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата), который зарегистрирован на территории РФ и успешно применяется при лечении гриппа, ОРВИ, клещевого энцефалита и недавно возникшего нового штамма вируса из семейства коронавирусов. Структурные аналоги Триазавирин® – натриевая соль 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**), натриевая соль 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**), натриевая соль 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**) и натриевая соль 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-ОН**) – обладают биологической активностью в отношении различных РНК-вирусов.

Ранее были изучены окислительно-восстановительные превращения веществ из ряда нитроазолоазинов, являющимися друг другу структурными аналогами (Триазавирин® и аргининиевой соли 5-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5- $\alpha$ ]пиримидин-7-она моногидрата). Редокс-процессы обоих соединений обусловлены восстановлением нитрогруппы, сопряженной с азогетероциклической системой, и происходят через стадию образования продукта радикальной природы. Как показали исследования, электрохимическое поведение NO<sub>2</sub>-группы может отличаться в зависимости от окружения молекулы, условий среды, положения заместителей. Поэтому исследование новых, оригинальных соединений требует индивидуального подхода. Кроме этого, для вольтамперометрического определения этих структурно-родственных соединений необходимы разные условия и параметры, что также свидетельствует о необходимости проведения персонализированного анализа.

Использование ЭХМИ, ЭПР-спектроскопии, ВЭЖХ, МСВР и проведение моделирования посредством квантово-химических расчетов позволит создать подход к комплексному исследованию превращений веществ, а также установить взаимосвязь между структурой молекулой, ее электрохимическими свойствами и биологической активностью. Это, в свою очередь, может быть полезно не только для предварительной оценки биологических свойств соединений, но и для интерпретации механизма физиологического воздействия вещества. Кроме этого, результаты, полученные с использованием предлагаемой модели, могут стать основой для направленного синтеза соединений из ряда нитротриазолотриазинов, обладающих большей биологической активностью. С другой стороны, выводы, сделанные в ходе комплексного исследования превращений исследуемых соединений, поспособствуют созданию простых и чувствительных методик количественного определения выбранных «соединений-лидеров» в стандартных образцах.

**Целью диссертационной работы** является разработка комплексного подхода для исследования структурных аналогов Триазавирин® – натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-ОН**) – с применением инструментальных и расчетных методов, а также методик вольтамперометрического определения выбранных перспективных соединений.

Для осуществления поставленной цели необходимо решить ряд задач:

1. Изучить вероятные механизмы электропревращений структурных аналогов Триазавирин® – натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-OH**) – в водных средах и апротонных растворителях методами вольтамперометрии: определить лимитирующую стадию процесса, число электронов и протонов, участвующих в реакции, установить зависимость влияния доноров протонов на процесс электропревращения.

2. Исследовать и установить возможную структуру промежуточных и конечных продуктов натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-OH**), образующихся в процессе электровосстановления изучаемых соединений с использованием комбинированных методов: вольтамперометрии/ЭПР-спектроскопии, ВЭЖХ, МСВР, квантово-химических расчетов.

3. Разработать комплексный подход, включающий инструментальные и расчетные методы, для исследования соединений из ряда натриевых солей 3-нитро-4-**X**-7-**R**тио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинидов, результаты которого позволят обоснованно выбрать вещества с вероятно наибольшей биологической активностью.

4. Изучить влияние материала трансдьюсера и режимов регистрации вольтамперометрических измерений на аналитический сигнал соединений натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-OH**).

5. Разработать методики вольтамперометрического определения соединений натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-OH**) в стандартном образце.

#### Научная новизна результатов исследования

Изучены особенности электропревращения натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-OH**). Выявлены закономерности влияния pH-среды, заместителей на электровосстановление этих веществ.

Показано, что электропревращения структурных аналогов Триазавирин® – натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-OH**) и натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-метилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**TZV**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**) и натриевой

соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**) – протекают по различным путям.

Показано, что необратимое четырехэлектронное восстановление натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**) протекает в две ступени, а у натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-ОН**) в одну, через образование анион-радикалов до гидроксиламинов, аминов и продуктов димерного строения. Электровосстановление **всех соединений** происходит в виде протонированных частиц в водной среде, в апротонной среде – в виде ионных пар с катионами натрия.

### Теоретическая значимость работы

Продемонстрировано, что несмотря на структурную схожесть соединений, кинетика их электропревращений различна: для натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-ОН**) реакция лимитируется диффузией, у натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**) – диффузией, осложненной предшествующей химической реакцией. Установлено наибольшее количество интермедиатов радикальной природы, образующихся в процессе электровосстановления, у натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-ОН**). Выделены и охарактеризованы промежуточные и конечные продукты электровосстановления изучаемых соединений.

Предложены возможные механизмы электровосстановления натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Bu**), натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-ОН**).

Предложен комплексный подход для исследования механизмов превращений натриевых солей 3-нитро-4-Х-7-Ртио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинидов, результаты которой хорошо согласуются с данными биофизических экспериментов.

### Практическая значимость работы

Исследовано влияние различных марок углеродных паст, применяемых при изготовлении толстопленочных электродов, на аналитический сигнал, полученный от натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**).

Разработана методика вольтамперометрического определения натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида моногидрата (**TZV-ОН**) в стандартном образце на стеклоуглеродном электроде (СУЭ) при рН 2,0 и 7,0. Диапазон линейности в обоих случаях составил 10–300 мг/дм<sup>3</sup>, предел обнаружения (ПО) 1,3 и 1,7 мг/дм<sup>3</sup> соответственно. Предел количественного определения (ПКО) 4,1 и 5,2 мг/дм<sup>3</sup> соответственно. В рамках выбранного диапазона концентраций была доказана правильность.

Разработана методика вольтамперометрического определения натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинида дигидрата (**Et**) в стандартном образце на СУЭ и толстопленочном углеродсодержащем электроде (ТУЭ)



при pH 7,0. Диапазон линейности на СУЭ составил 10–300 мг/дм<sup>3</sup>, ПО 1,3 и ПКО 4,0 мг/дм<sup>3</sup>. С использованием ТУЭ диапазон линейности 10–500 мг/дм<sup>3</sup>, ПО 1,2 и ПКО 3,6 мг/дм<sup>3</sup>.

Созданные методики вольтамперометрического определения натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины моногидрата (**TZV-OH**) и натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины дигидрата (**Et**) были опробованы, признаны пригодными в компании ООО «Завод Медсинтез» и будут внедрены в технологический процесс в случае промышленного производства потенциальных лекарственных противовирусных препаратов.

### Положения, выносимые на защиту

1. Результаты исследования электропревращений структурных аналогов Триазавирин® – натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазины дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазины дигидрата (**Bu**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины моногидрата (**TZV-OH**); строение их промежуточных и конечных продуктов.

2. Вероятные механизмы электропревращений структурных аналогов Триазавирин® – натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазины дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазины дигидрата (**Bu**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины моногидрата (**TZV-OH**) – и их сравнение.

3. Результаты комплексных исследований соединений из ряда натриевых солей 3-нитро-4-Х-7-Rтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов.

4. Результаты исследования влияния материала трансдьюсера, режимов регистрации вольтамперограмм на аналитический сигнал натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины дигидрата (**Et**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины моногидрата (**TZV-OH**).

5. Новые вольтамперометрические методики количественного определения натриевой соли 3-нитро-4-оксо-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины дигидрата (**Et**) и натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-1,4-дигидро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазины моногидрата (**TZV-OH**) в стандартных образцах.

### Методология и методы диссертационного исследования

Изучение электропревращений соединений с установлением принадлежности электрохимического отклика; обратимости/необратимости процесса; количества электронов, участвующих в процессе; кинетики лимитирующей стадии было проведено методами циклической вольтамперометрии, в том числе с использованием температурно-кинетического метода и хроноамперометрии.

Прямая ЭПР-спектроскопия, комбинированный метод (ЭПР-спектроскопия и циклическая вольтамперометрия/хроноамперометрия), метод регистрации ЭПР-спектров с зондом ТМТН (N-(1-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-2-метилпропанамид гидрохлорид) и ловушкой ДМРО (3,5,5-диметил-1-пирролин N-оксид) в совокупности с моделированием посредством квантово-химических расчетов были применены для установления наличия и структуры парамагнитных радикальных частиц.

Квантово-химические расчеты были выполнены в ORCA ver. 5.0.3 с использованием метода теории функционала плотности гибридного функционала B3LYP в тройном-зета базисе с двумя поляризационными функциями def2-TZVPP с поправкой атомно-парной



дисперсии со схемой Бекке-Джонсона (D3BJ). Симуляция и визуализация расчетных ЭПР спектров была выполнена в модуле EasySpin 5.2.35 программного пакета MATLAB.

Различные режимы регистрации вольтамперограмм (линейный, квадратно-волновой, дифференциально - импульсный) были использованы для разработки методик количественного определения. Метод трафаретной печати был применен для изготовления толстопленочных углеродсодержащих электродов.

Определение величин  $pK_a$  для исследуемых соединений было проведено с применением потенциометрического и спектрофотометрического метода. Препаративный электролиз совместно с высокоэффективной жидкостной хроматографией и масс-спектроскопией высокого разрешения были использованы для получения и идентификации промежуточных и конечных продуктов редокс-реакции.

### **Степень достоверности полученных результатов**

Достоверность представленных в настоящей работе результатов подтверждается применением современных физико-химических методов исследования и анализа, обеспечена использованием высокоточным сертифицированным, поверенным и аттестованным контрольно-измерительным оборудованием известных мировых производителей, которое расположено на базе Химико-Технологического института УрФУ и Научно образовательного и Инновационного центра химико-фармацевтических технологий УрФУ; проверенного программного обеспечения, современных средств и методов проведения исследований (квантово-химическое моделирование). Экспериментальные данные характеризуются высокой воспроизводимостью; а также хорошей сходимостью результатов теоретических расчетов, моделирования с экспериментальными данными.

### **Апробация работы**

Результаты проведенных исследований доложены в постерных и устных докладах на всероссийских и международных конференциях: V, VII, VIII Международная конференция «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (Екатеринбург, 2021, 2023, 2024), XXXII, XXXIII Российская молодежная научная конференция с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Екатеринбург, 2022, 2023), IX международная молодежная научная конференция «Физика. Технологии. Инновации» (Екатеринбург, 2022), XI Всероссийская конференция по электрохимическим методам анализа «ЭМА-2024» (Екатеринбург, 2024).

### **Публикации**

Основные результаты работы были опубликованы в 13 научных работах, в том числе в 3 научных статьях в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ и входящих в международную библиографическую базу *Scopus* и *WoS*, и 10 тезисах докладов на всероссийских и международных конференциях.

**Личный вклад автора** состоит в сборе, систематизации и анализе литературных данных; постановке целей и задач исследования; планировании и выполнении исследований и обработке полученных результатов; в написании статей и выступлениях с докладами на различных конференциях.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения и списка литературы. Работа изложена на 133 печатных страницах и содержит 32 рисунка и 15 таблиц. Список литературы включает 172 наименований работ российских и зарубежных авторов.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** раскрыты актуальность и степень разработанности темы диссертационного исследования, определены его цели и задачи, сформулирована научная новизна, практическая значимость и положения, выносимые на защиту.

**Литературный обзор** посвящен основным достижениям в области исследования путей и механизмов электропревращений нитрогетероциклических и нитроароматических соединений, показано их многообразие в зависимости от условий среды и влияния различных заместителей. Описаны пути образования анион-радикалов. Продемонстрировано использование цифровых технологий, в том числе квантово-химических расчетов, молекулярной динамики и молекулярного докинга, для изучения превращений нитрогетероциклических и нитроароматических соединений. Сделан упор на исследования, посвященные вольтамперометрическому определению лекарственных препаратов, действующие вещества которых содержат в своей структуре нитрогруппу, с помощью различных сенсоров.

Во **второй главе** представлены сведения о материалах, методиках диссертационного исследования, а также реактивах, материалах, применяемой инструментальной базе.

**Третья глава** посвящена исследованию вероятного механизма электропревращений **TZV-OH**, сравнение его с ранее известным электропревращением **TZV**. Электрохимическое превращение 3-R-4-оксо(гидрокси)-1,4-дигидро-7-X-[1,2,4]триазоло[5,1-c][1,2,4]триазинов с различными заместителями проводили в буферном растворе Бриттона-Робинсона (ББР) методом циклической вольтамперометрии (ЦВА) (рисунок 1). Необратимое одноволновое восстановление соединений **TZV-OH** и **II**, и двухволновое для соединений **TZV** и **I**, в диапазоне потенциалов от  $-0,23$  до  $-0,3$  В обусловлено протеканием процесса электровосстановления (ЭВ) нитрогруппы, ЭВ соединения **III** в данном диапазоне потенциалов не наблюдается. Как показали ЦВА-исследования **всех соединений** различия в поведении **TZV-OH** и **II**, от **TZV** и **I** связаны, вероятно, с заменой оксо-группы на гидроксильный фрагмент в 4 положении шестичленного кольца гетероцикла. Показано, что **TZV-OH**, как и **TZV** в апротонной среде восстанавливается в ионном виде, вероятнее всего, в виде ионной пары с катионом  $\text{Na}^+$ , а в водной среде в виде протонированной частицы.

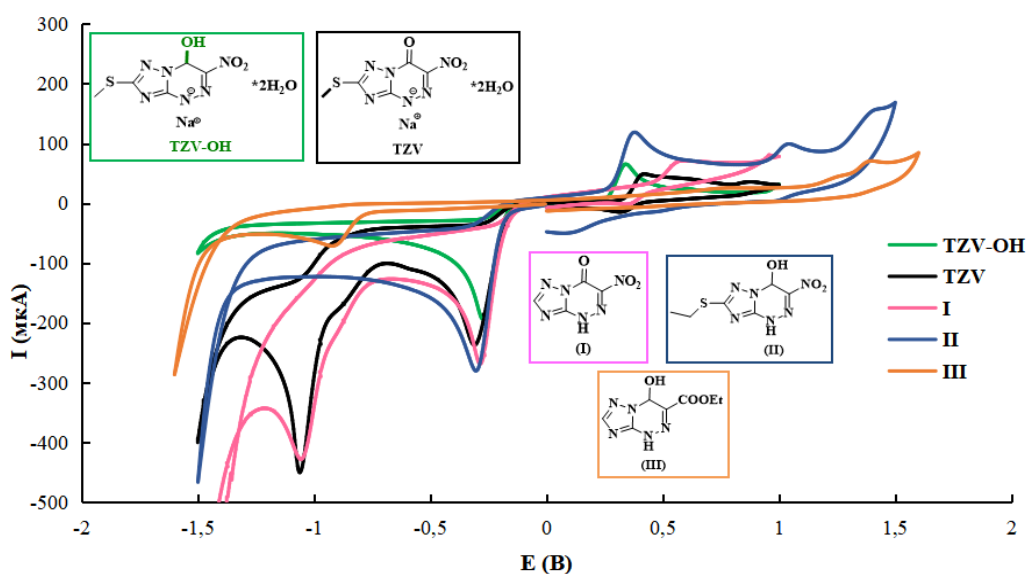


Рисунок 1 – ЦВА, зарегистрированные на СУЭ в растворе ББР (рН 2,0) с добавлением 5 ммоль/дм<sup>3</sup> соединений **TZV-OH**, **TZV**, **I-III** при  $\nu = 0,1$  В/с

Известно, что реакция восстановления нитрогруппы сопровождается предшествующей протонизацией, поэтому было исследовано влияние pH растворов ББР (в диапазонах pH от 2,0 до 11,0) на величину тока и значения потенциалов восстановления **TZV-OH**. Увеличение pH среды практически не влияет на величину тока (рисунок 2). Наблюдается линейная зависимость между значением потенциала катодного пика соединения **TZV-OH** и pH ББР, которая описывается уравнением (1) и свидетельствует об участии протонов в ЭВ **TZV-OH**. С учетом тангенса угла наклона зависимости  $E = f(\text{pH})$  равного 50,8 мВ/pH и близкому к теоретическому значению Нернста (59 мВ/pH) установлено, что в процессе ЭВ **TZV-OH** участвует эквивалентное количество протонов и электронов (отношение между протоном (m) и электронами (z) составило 0,86).

$$E = -(0,0508 \pm 0,0007) \text{pH} - (0,154 \pm 0,05) \quad (R^2 = 0,9987) \quad (1)$$

Поскольку величина катодного тока не зависит от pH фонового электролита, а зависимость E от pH среды линейна, можно предположить, что ЭВ **TZV-OH** во всем диапазоне pH происходит по одному механизму, в отличие от **TZV**, у которого наблюдается различия в протекании электродных реакции в кислой, нейтральной и щелочной средах.

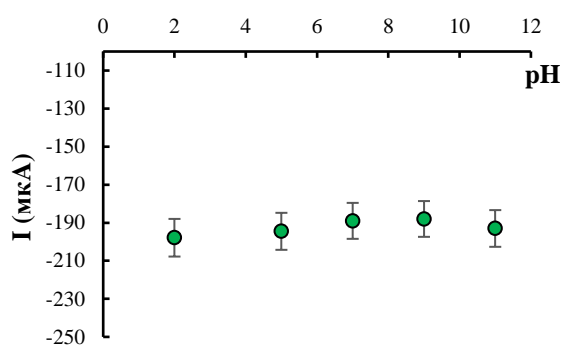


Рисунок 2 – Зависимость величины тока первого пика восстановления от pH среды для 5 ммоль/дм<sup>3</sup> соединения **TZV-OH**

Рассчитанный критерий Семерано, равный 0,51; линейная зависимость величины тока пика (I) от квадратного корня из скорости наложения потенциала (2)

$$I \text{ (мкА)} = 0,3003v^{0,5} \quad (R^2 = 0,95) \quad (2)$$

и рассчитанная по температурно-кинетическому методу энергия активации, значение которой 2,99 ккал/моль, свидетельствуют о диффузионном характере ЭВ **TZV-OH**. При этом ЭВ **TZV**, лимитируется диффузией, осложненной предшествующей химической реакцией.

Расчет эффективного числа электронов  $n_e$ , участвующих в электрохимической реакции электровосстановления **TZV-OH**, был проведен четырьмя параллельными способами (таблица 1).

Таблица 1 – Средние значения рассчитанного числа электронов  $n_e$ , участвующих в электровосстановлении соединения **TZV-OH** ( $C = 5$  ммоль/дм<sup>3</sup>) в водном буферном растворе ББР при pH 2,0, определенные методами ЦВА, ХА

Соединение	$n^1_e$	$n^2_e$	$n^3_e$	$n^4_e$ (ХА)
<b>TZV-OH</b>	2,98	3,10	<b>3,5</b>	3,07
<b>K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub></b>	1	1	1	1.02

*Примечание:*  $n^1_e$  – количество электронов, полученное отношением количества электричества пика вещества с количеством электричества пика модельной редокс-пары  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  в тех же самых условиях;  $n^2_e$  – количество электронов, полученное отношением тока пика вещества с током пика модельной редокс-пары  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  в тех же самых условиях;  $n^3_e$  – количество электронов, полученное по уравнению Рендлса – Шевчика для необратимых систем, учитывая что  $\alpha = 0,37$ ;  $n^4_e$  – по уравнению Коттрелла, принимая во внимание, что значение коэффициента диффузии для нитроароматических соединений в водных средах близко к  $10^{-5}$  см<sup>2</sup>/с

Число электронов, полученное по уравнению Ренделса – Шевчика для необратимых систем с учетом рассчитанного при использовании температурно-кинетического метода

коэффициента переноса электронов ( $\alpha = 0,37$ ), приближается к значению 4, что согласуется с классической схемой электровосстановления нитросоединений.

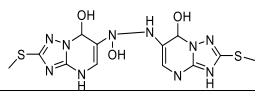
Прямая регистрация ЭПР-спектров не привела к увеличению парамагнитной активности радикальных частиц в течение электрогенерирования при потенциале после первого пика восстановления **TZV-OH**, как и в случае с **TZV**. Однако применение спинового зонда ТМТН и спиновой ловушки ДМРО позволило установить наличие короткоживущих частиц радикальной природы, которые, возможно, могут являться одной из причин, обуславливающей биологическую активность.

Отсутствие роста количества парамагнитных частиц в холостом опыте и значительный их рост в присутствии ТМТН во времени электрогенерирования **TZV-OH** после потенциала первого пика восстановления как в апротонной среде (холостой опыт –  $N = 0,0061\tau + 0,0388$ ; с добавлением **TZV-OH**  $N = 0,27\tau + 0,63$ ), так и в водной среде (холостой опыт –  $N = 0,005\tau + 0,5173$ ; с добавлением **TZV-OH**  $N = 0,52\tau + 0,90$ ) может косвенно указывать на радикальный характер промежуточных продуктов электропревращения **TZV-OH**. Аналогичная зависимость наблюдалась и у **TZV** (тангенс угла наклона в водной среде составляет 0,29, а в апротонной – 0,12). Кроме этого, линейная зависимость концентрации спиновых аддуктов взаимодействия ДМРО с продуктами ЭВ **TZV-OH** и **TZV** от времени также свидетельствует о радикальном механизме реакции ЭВ веществ. Сравнение тангенсов угла наклона всех вышеуказанных зависимостей **TZV-OH** и **TZV** позволяет предположить, что у **TZV-OH** по сравнению с **TZV** образуется больше интермедиатов радикальной природы как в водных средах, так и в апротонных растворителях.

Комбинация квантово-химических расчетов с экспериментальными данными, полученными в ходе ЭПР-регистрации изучаемых веществ со спиновой ловушкой ДМРО, позволили смоделировать вероятные пути ЭВ в апротонной среде **TZV-OH** и **TZV**, а также установить локализацию возможных точек образования радикалов в структуре молекул, которыми являются нитрогруппа и атом азота в I положении в шестичленном кольце гетероцикла. На рисунке 3 (а и б) представлены вероятные пути ЭВ в апротонной среде для **TZV-OH** и **TZV** соответственно. Сравнение вероятных путей электровосстановления соединений **TZV-OH** и **TZV** позволяет отметить, что для **TZV** требуется на одну стадию протонирования больше, чем в случае соединения **TZV-OH**, что может быть связано с различием заместителей в структурах исследуемых веществ. Кроме этого, наблюдаются отличия в формах ЭПР-спектров аддуктов взаимодействия спиновой ловушки ДМРО и электрогенерированных продуктов **TZV-OH** и **TZV** при потенциале после первого пика восстановления. Зарегистрированный и смоделированный ЭПР-спектры (в соотношении аддуктов **TZV-OH** (4) и **TZV-OH** (5) как 1:2 и **TZV** (2): **TZV** (3): **TZV** (4) как 3 : 1 : 0,33) настолько близки, что это может являться подтверждением вероятности образования данных аддуктов при восстановлении исследуемых веществ в апротонной среде в присутствии спиновой ловушки ДМРО (рисунок 3, з и в).

Однако методом МСВР установлены промежуточные и конечные продукты ЭВ **TZV-OH**, полученные в процессе электросинтеза в гальваностатическом режиме, которыми, как и в случае с **TZV**, являются гидроксиламины, амины и продукты димерного строения (таблица 2).

Таблица 2 – Данные МСВР-смеси продуктов электролиза соединения **TZV-OH**

Соединение	Молекулярная формула	Теоретическая масса	Практическая масса	Предлагаемая химическая структура
1	$C_5H_8N_6O_2S$	216,05	216,04	
2	$C_5H_8N_6OS$	200,05	200,05	
3	$C_{12}H_{16}N_{10}O_3S_2$	412,07	412,07	

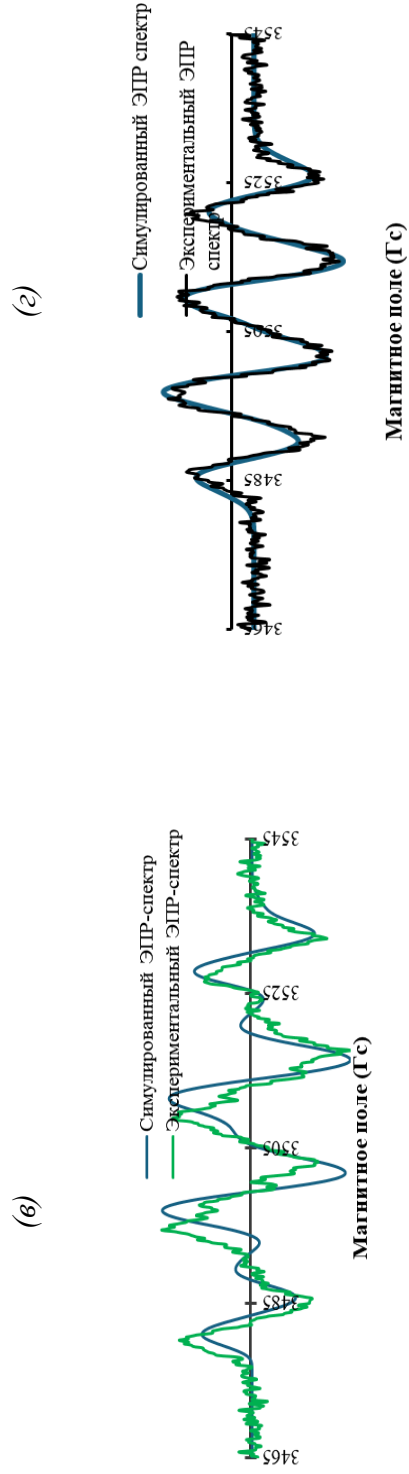
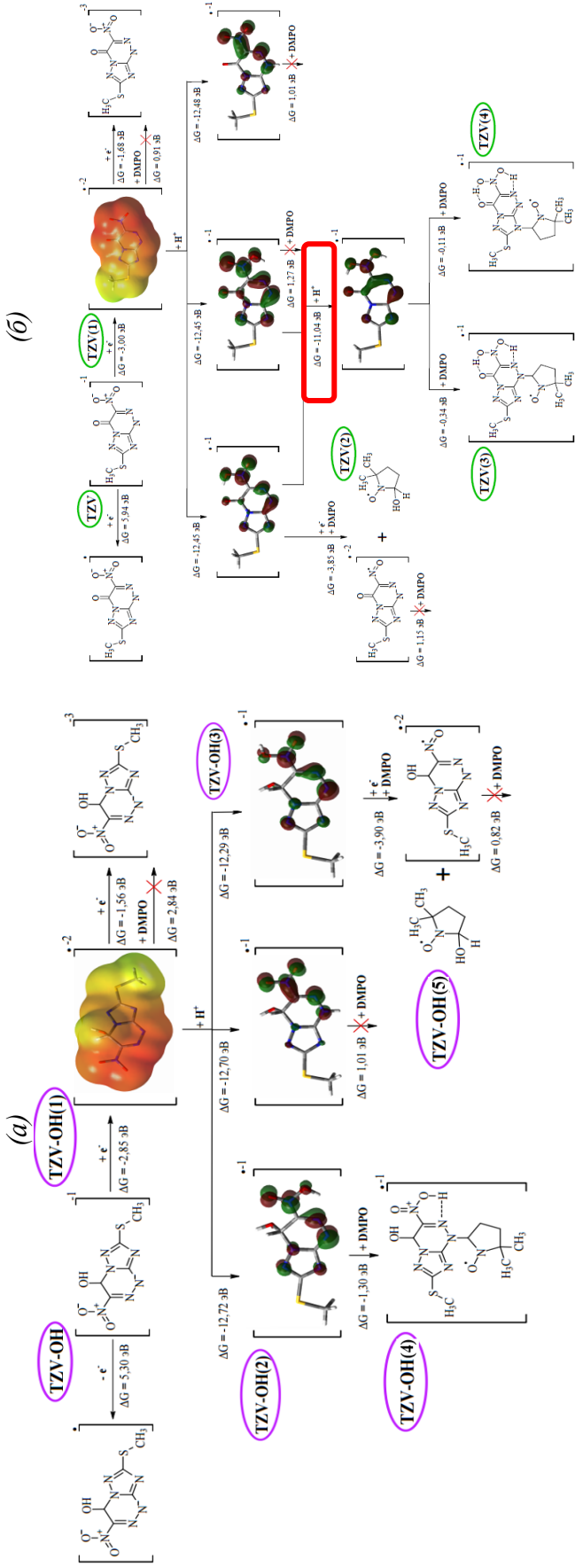


Рисунок 3 – Вероятный путь электровосстановления соединений **TZV-OH (a)** и **TZV (b)** в апротонной среде и зарегистрированные ЭПР-спектры аддуктов спиновой ловушки DMPO с продуктами восстановления соединения **TZV-OH (a)** и **TZV (b)** в ДМФА с совмещенными симулированными ЭПР-спектрами предполагаемых аддуктов

На основании вышеизложенных экспериментальных данных и изученной литературы был предложен вероятный путь электровосстановления соединения **TZV-OH** в водной среде (рисунок 4).

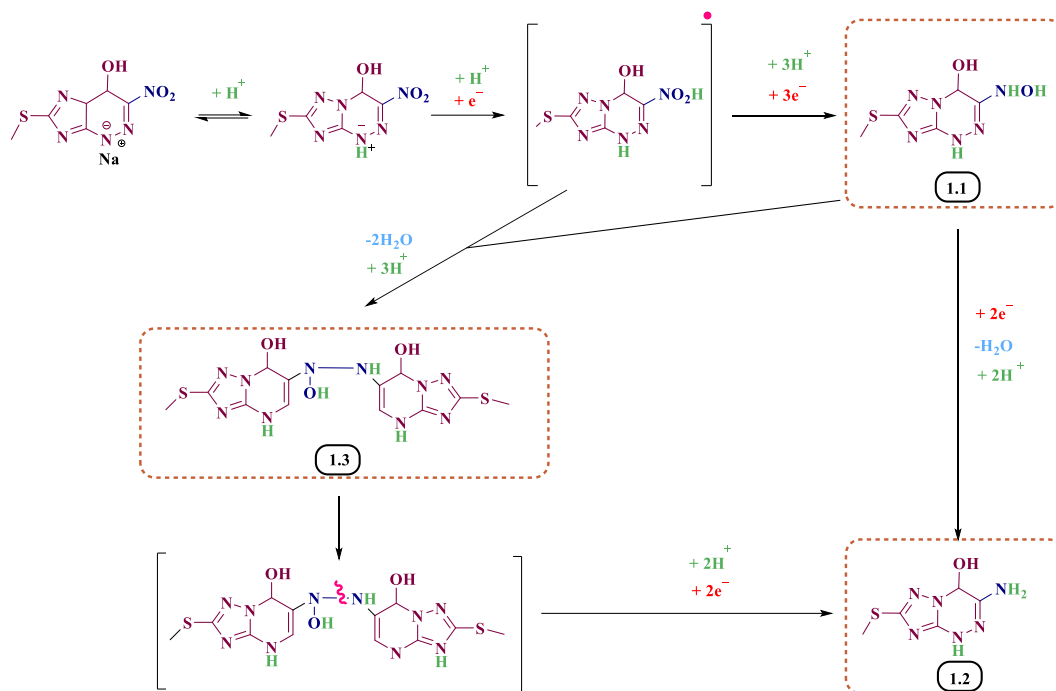


Рисунок 4 – Вероятная схема электровосстановления соединения **TZV-OH** в водной среде

Таким образом, результаты комплексного исследования превращений **TZV-OH** и **TZV** показали, что несмотря на структурную схожесть **TZV-OH** и **TZV**, наблюдаются различия в электропревращении данных соединений. Необратимое электровосстановление нитрогруппы **TZV-OH** является одноволновым и диффузионно-контролируемым в отличие от **TZV**, в котором процесс протекает в две ступени с присоединением 4-х и 2-х электронов соответственно и лимитируется диффузией, осложненной предшествующей химической реакцией. Электропревращение нитрогруппы **TZV-OH** остается схожим в диапазоне pH от 2,0 до 11,0 в отличие от **TZV**, у которого наблюдаются различия в протекании электродных реакции в кислой, нейтральной и щелочной средах. Показано, что при электровосстановлении соединения **TZV-OH** образуется большее количество интермедиатов радикальной природы. Это может быть обусловлено структурной особенностью соединения **TZV-OH**, которая приводит к различной кинетике электропревращения, следствием чего является отсутствие дополнительной стадии протонирования анион-радикала у соединения **TZV-OH**. Кроме того, одной из причин возникновения меньшего количества радикальных частиц у соединения **TZV** может являться образование окисмов.

Исследования *in vitro* с целью установления вероятности слияния частиц вируса гриппа А с модельными липидными мембранами, позволяющими моделировать эндосомальную мембрану клетки человека, показали, что обработка вирусных частиц **TZV-OH** приводит к лучшему ингибированию процесса слияния (% слияния = 40,4) по сравнению с **TZV** (% слияния = 52,6). Это указывает на то, что **TZV-OH** обладает большим противовирусным эффектом в отношении вируса гриппа А (штамм А/Puerto Rico/8/34, подтип H1N1).

Результаты, полученные с использованием инструментальных и расчетных методов, коррелируют с результатами экспериментов *in vitro* и дают основания полагать, что **TZV-OH** будет обладать большей биологической активностью, чем **TZV**.



**Четвертая глава** включает в себя разработку методики вольтамперометрического определения **TZV-OH** на стеклоуглеродном электроде. На основании результатов исследований (гл. 3) в качестве аналитического сигнала (АС) была выбрана величина площади под пиком восстановления нитрогруппы **TZV-OH**. В качестве рабочей среды был выбран ББР рН 2,0, поскольку в этом случае АС максимально сдвинут в анодную область, что позволило избежать наложения линии разряда фона. Использовали физический способ удаления растворенного кислорода. Проведен выбор режима и его параметров для регистрации вольтамперограмм. Область линейности градуировочного графика (ГГ) в растворе ББР (рН 2,0 ± 0,1) с использованием разработанного метода составляет 10–300 мг/дм<sup>3</sup> **TZV-OH** ( $S$  (мкКл) = (0,021 ± 0,001)  $C$  (мг/дм<sup>3</sup>) + (0,010 ± 0,005)) (мкКл)  $R^2 = 0,999$ ). Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) были рассчитаны из уравнения градуировочной зависимости в диапазонах концентрации от 10 до 50 мг/дм<sup>3</sup> **TZV-OH**. Полученные данные представлены в таблице 3. Оценена правильность разработанной методики по методу «введено – найдено». Показатель правильности для различных уровней концентраций близок к 100 % со средним значением 100,8 ± 2,9 %. Значение стандартного отклонения составило 3,9, а относительного стандартного отклонения – 4,8 %.

Таблица 3 – Расчет ПО для **TZV-OH** в ББР рН 2,0 с физическим удалением на СУЭ

Параметр	Величина
Диапазон концентрации	10–50 мг/дм <sup>3</sup>
Уравнение прямой	$S$ (мкКл) = (0,021 ± 0,003) $C$ (мг/дм <sup>3</sup> ) + (0,11 ± 0,01) (мкКл)
Коэффициент корреляции	0,99
ПО, мг/дм <sup>3</sup>	1,3
ПКО, мг/дм <sup>3</sup>	4,1

С целью экономии времени при выполнении количественного контроля потенциального лекарственного препарата **TZV-OH** и, учитывая подобный механизм ЭВ **TZV-OH** на всем диапазоне рН, была предложена процедура химического удаления кислорода при рН 7,0 в присутствии сульфита натрия. Проведен выбор режима и его параметров для регистрации вольтамперограмм. В качестве АС использовали величину площади под пиком восстановления, поскольку форма кривых вольтамперограмм (КвВА) имеет не симметричную форму, вследствие чего измерение высоты пика является некорректным (рисунок 5).

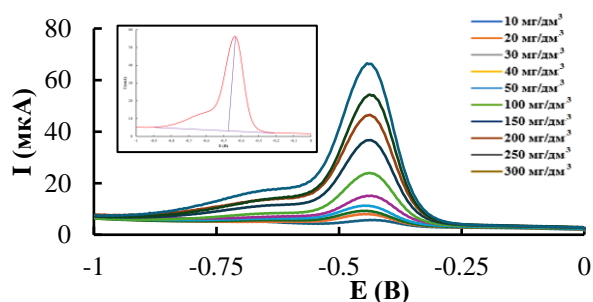


Рисунок 5 – КвВА, зарегистрированные на СУЭ в ББР рН (рН 7,0±0,1) + 0,04 М Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> с добавлением 10, 20, 30, 50, 100, 150, 200, 250, 300 мг/дм<sup>3</sup> **TZV-OH** со скоростью развертки потенциала 0,15 В/с, амплитудой импульса 50 мВ и частотой 20 Гц ( $n = 3$ ,  $p = 0,95$ ). Вставка – измерение АС **TZV-OH**

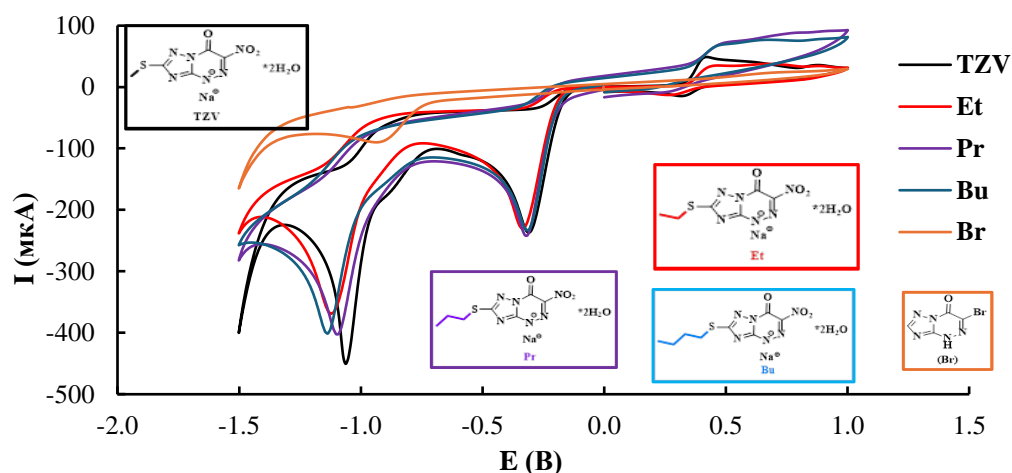
Область линейности ГГ с использованием разработанного метода составляет 10–300 мг/дм<sup>3</sup> **TZV-OH**. ПО и ПКО были рассчитаны из уравнения градуировочной зависимости в диапазонах концентрации от 10 до 50 мг/дм<sup>3</sup> **TZV-OH**. Полученные данные представлены в таблице 4. Оценена правильность разработанной методики по методу «введено – найдено». Показатель правильности для различных уровней концентраций близок к 100% со средним значением 98,3 ± 1,3 %. Значение стандартного отклонения составило 1,6, а относительного стандартного отклонения – 1,8 %.



Таблица 4 – Расчет ПО для **TZV-ОН** в ББР pH 7,0 с химическим удалением на СУЭ

Параметр	Величина
Диапазон концентрации	10–50 мг/дм <sup>3</sup>
Уравнение прямой	$S$ (мкКл) = $(0,037 \pm 0,006) C$ (мг/дм <sup>3</sup> ) – $(0,21 \pm 0,02)$ (мкКл)
Коэффициент корреляции	0,99
ПО, мг/дм <sup>3</sup>	1,7
ПКО, мг/дм <sup>3</sup>	5,2

**Пятая глава** посвящена исследованию вероятных механизмов электропревращений **Et**, **Pr**, **Bu**, структурных аналогов **TZV** и сравнению его с ранее известным электропревращением **TZV**. ЦВА-исследования (рисунок 6) показали, что необратимое двухволновое восстановление **TZV**, **Et**, **Pr**, **Bu** в диапазоне потенциалов для первого пика от  $-0,27$  до  $-0,3$  В, второго – от  $-1,05$  до  $-1,13$  В обусловлены протеканием процесса ЭВ нитрогруппы. При этом ЭВ соединения **Br**, содержащее в своей структуре атом брома вместо нитрогруппы, в данном диапазоне потенциалов не наблюдается.

Рисунок 6 – ЦВА, зарегистрированные на СУЭ в растворе ББР (pH 2,0) с добавлением 5 ммоль/дм<sup>3</sup> соединений **TZV**, **Et**, **Pr**, **Bu**, **Br**, при  $v = 0,1$  В/с

На анодной части вольтамперограмм после изменения направления развертки потенциала наблюдаются необратимые пики продуктов ЭВ соединений **TZV**, **Et**, **Pr**, **Bu**, при близких потенциалах в диапазонах  $+0,4$  до  $+0,5$  В, что указывает на образование близких по структуре продуктов, вероятно, при данных потенциалах окисляется анион соответствующего гидросиламинного производного. Удлинение тиольного хвоста в 7 положении триазинового цикла практически не влияет на потенциал и величину токов ЭВ соединения на первой стадии.

Из рисунка 7 (а) видно, что характер зависимости величины тока от pH фонового электролита для **Pr**, **Bu** аналогичен с **TZV**. В случае **Et** характерно постепенное уменьшение величины тока в абсолютном значении с увеличением pH раствора. Для **всех соединений** наблюдается максимум величины тока при  $\text{pH } 2,0 \pm 0,1$  и  $7,0 \pm 0,1$ . Зависимости потенциалов (рисунок 7, б) ЭВ **TZV**, **Et**, **Pr**, **Bu** от pH-среды могут свидетельствовать об участии протонов в электрохимическом процессе. В диапазоне pH от  $2,0 \pm 0,1$  до  $7,0 \pm 0,1$  наблюдается линейный сдвиг величины потенциала в катодную область, что может говорить о затруднении процессов электровосстановлений **Et**, **Pr**, **Bu** вследствие недостатка протонов.

Для **всех веществ** типично нахождение как в ионной, так и в протонированной форме в зависимости от pH-среды, на что указывают значения рКа, полученные

потенциометрическим и оптическими методами: для **Et** – 2,47, **Pr** – 2,52, **Bu** – 2,67. Добавление доноров протонов к раствору соединений **Et**, **Pr**, **Bu** в ДМФА, как и в случае с **TZV**, приводит к увеличению величины тока восстановления и смещению значения потенциала в более анодную область. Можно предположить, что в протонированных средах **Et**, **Pr**, **Bu** восстанавливаются как протонированная частица, а в апротонных – как гетероциклический ион.

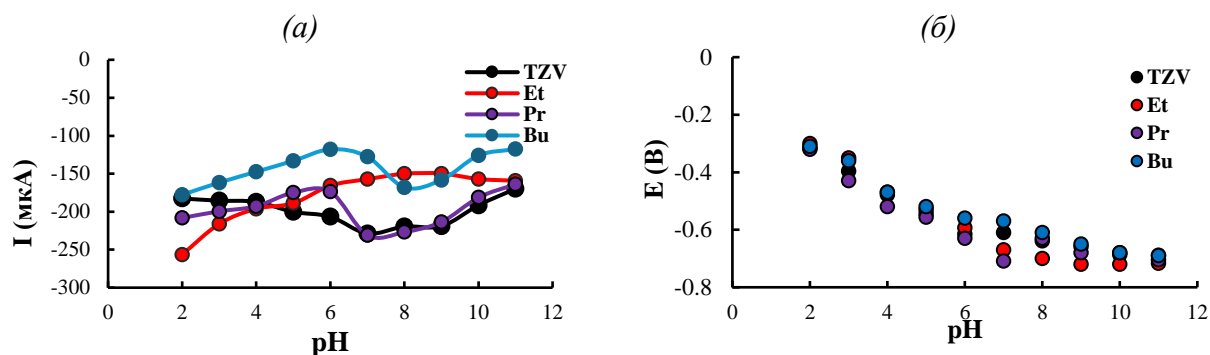


Рисунок 7 – (а) Зависимость величины тока первого пика восстановления для 5 ммоль/дм<sup>3</sup> **TZV**, **Et**, **Pr**, **Bu** ( $S = 3,14 \text{ мм}^2$ ) и (б) значения его потенциала от pH-среды

Кинетика электрохимической реакции **Et** контролируется диффузией, на что указывает линейная зависимость тока пика ( $I$ ) от квадратного корня из скорости наложения потенциала и рассчитанный критерий Семерано и энергия активации (таблица 5). Соединения **Pr** и **Bu** ведут подобно **TZV**: для них характерен диффузионный процесс, осложненный предшествующей химической реакцией. Рассчитан коэффициент переноса электрона ( $\alpha$ ) для **Et**, **Pr**, **Bu** с применением температурно-кинетического метода.

Таблица 5 – Рассчитанные критерий Семерано, эффективные энергии активации и коэффициенты переноса электрона для соединений **Et**, **Pr**, **Bu**

Соединение	Критерий Семерано	$W_{\text{эф.акт}}$ ккал/моль	Коэффициент переноса ( $\alpha$ )
<b>Et</b>	$\lg I = -(0,49 \pm 0,01) \lg v - (4,03 \pm 0,08)$	3,85	0,48
<b>Pr</b>	$\lg I = -(0,36 \pm 0,02) \lg v - (4,20 \pm 0,05)$	5,80	0,24
<b>Bu</b>	$\lg I = -(0,41 \pm 0,02) \lg v - (4,00 \pm 0,05)$	6,96	0,32

Эффективное число электронов, участвующих в ЭВ **Et**, **Pr**, **Bu**, было определено несколькими методами (таблица 6). Среднее количество электронов, принимающих участие на первой стадии ЭВ, составило 4 для **Et**, а для **Pr**, **Bu** – 3. Однако для **Pr** и **Bu**  $n_e$ , полученное по уравнению Ренделса – Шевчика, приближается к значению 4.

Таблица 6<sup>1</sup> – Средние значения рассчитанного числа электронов  $n_e$ , участвующих в электровосстановлении соединений **Et**, **Pr**, **Bu** ( $C = 5 \text{ ммоль/дм}^3$ ) в водном буферном растворе ББР при pH 2,0, определенные методами ЦВА, ХА

Соединение	$n_e^1$	$n_e^2$	$n_e^3$	$n_e^4$ (ХА)	$D$ , см <sup>2</sup> /с
<b>Et</b>	4,01	3,67	3,94	3,97	$1,02 \times 10^{-6}$
<b>Pr</b>	2,68	2,49	3,7	2,72	$0,4 \times 10^{-5}$
<b>Bu</b>	2,96	2,48	3,93	3,10	$0,6 \times 10^{-5}$
<b>K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub></b>	1	1	1	1,02	–

<sup>1</sup> Примечание как в таблице 1

Дальнейшим этапом исследования являлось фиксирование частиц радикальной природы. Прямая регистрация ЭПР-спектров не привела к увеличению парамагнитной активности радикальных частиц в течение электрогенерирования **Et**, **Pr**, **Bu** при потенциале после первого пика восстановления, как и в случае с **TZV**. Отсутствие роста количества парамагнитных частиц в холостом опыте и значительный их рост в присутствии спинового зонда ТМТН во времени электрогенерирования может косвенно указывать на радикальный характер промежуточных продуктов электропревращения **Et**, **Pr**, **Bu** (таблица 7). Кроме этого, линейная зависимость концентрации спиновых аддуктов взаимодействия ДМРО с продуктами ЭВ **Et**, **Pr**, **Bu** и от времени также свидетельствует о радикальном механизме реакции ЭВ-веществ. Сравнение тангенсов угла наклона всех вышеуказанных зависимостей у всех соединений дает основания полагать, что у **Et** по сравнению с оставшимися соединениями образуется **больше интермедиатов** радикальной природы как в водных средах, так и в апротонных растворителях.

Таблица 7 – Зависимости количества парамагнитных центров ( $N$ ) от времени ( $\tau$ ) электрохимического синтеза соединений **Et**, **Pr**, **Bu** ( $C = 2$  ммоль/дм<sup>3</sup>) в водной (ББР (рН 7,0)) и апротонной среде (ДМФА) с добавлением спинового зонда ТМТН ( $C = 2$  ммоль/дм<sup>3</sup>)

Соединение	Уравнения регрессии	
	водная	апротонная
<b>TZV</b>	$N = 0,29\tau + 0,99$	$N = 0,12\tau + 1,32$
<b>Et</b>	$N = 0,60\tau + 1,56$	$N = 0,19\tau + 0,54$
<b>Pr</b>	$N = 0,39\tau + 1,00$	$N = 0,135\tau + 1,48$
<b>Bu</b>	$N = 0,41\tau + 1,24$	$N = 0,138\tau + 0,13$
<b>фон</b>	$N = 0,005\tau + 0,04$	$N = 0,006\tau + 0,04$

Комбинация квантово-химических расчетов с экспериментальными данными, полученными в ходе ЭПР-регистрации веществ со спиновой ловушкой ДМРО, позволили смоделировать вероятные пути ЭВ в апротонной среде **всех соединений** и установить локализацию возможных точек образования радикалов в структуре молекул, которыми является нитрогруппа и атом азота в I положении в шестичленном кольце гетероцикла. Вероятные пути ЭВ **Pr**, **Bu** подобны **Et** (рисунок 8). Существенных различий в путях ЭВ и формы ЭПР-спектров аддуктов взаимодействия спиновой ловушкой ДМРО и электрогенерированного продукта **Pr**, **Bu** от **Et** не наблюдалось (данные для **Pr**, **Bu** результаты приведены в диссертационной работе). Для всех соединений характерен одинаковый набор аддуктов в смеси, соотношения которых **(2):(3):(4)** как 3:1:0.33.

Кроме этого, для **TZV**, **Et**, **Pr**, **Bu** характерен одинаковый набор продуктов (гидроксиламинов, аминов и продуктов димерного строения), полученных в ходе проведения электролиза соединений в гальваностатическом режиме с последующей идентификацией структуры продуктов методом МСВР.

Однако удлинение тиольного хвоста в структурах изучаемых соединений возможно приводит к различиям в их электропревращении. Для **Et** в отличие от **TZV**, **Pr**, **Bu** характерен диффузионно-контролируемый необратимый процесс электровосстановления нитрогруппы. Возможно, что различия в кинетике электропревращения соединения **Et** приводит к образованию большего количества интермедиатов радикальной природы как в апротонной, так и в протонной среде. Суммируя вышесказанное, можно предположить, что соединение **Et** будет обладать большим биологической активностью, чем соединения **TZV**, **Pr**, **Bu**. Общая схема ЭВ **TZV**, **Et**, **Pr**, **Bu** в водной среде представлена на рисунке 9.

Результаты, полученные в ходе экспериментов *in vitro* по слиянию частиц вируса гриппа А (штамм А/Puerto Rico/8/34, подтип H1N1) с модельными липидными мембранами, позволили выявить последовательность соединений от наиболее активного к наименее

активному: **Et** > **Pr** > **TZV**. Методом молекулярного докинга показано, что наиболее прочный контакт *fusion*-пептида белка гемагглютинина с лигандом вещества наблюдается у **Et**, слабее у **TZV**.

Существует корреляция между данными, полученными в ходе комплексного исследования с использованием инструментальных и расчетных методов, и результатами экспериментов *in vitro*. Можно полагать, что **Et** будет обладать более выраженной биологической активностью.

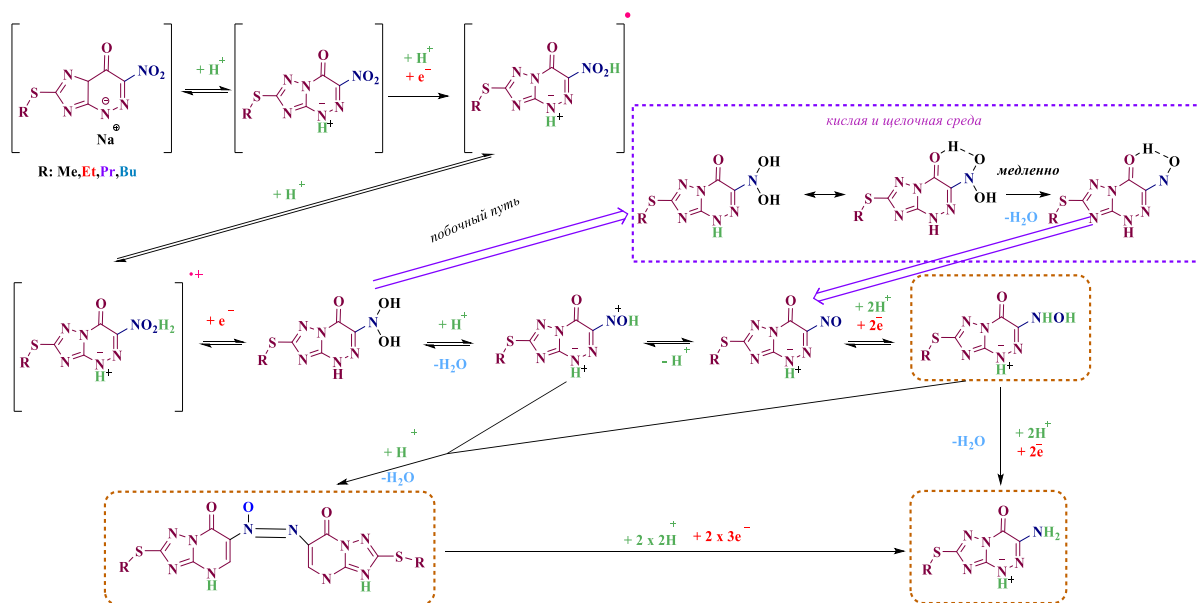


Рисунок 9 – Вероятная схема электровосстановления **TZV**, **Et**, **Pr**, **Bu** в водной среде

Из графика, представленного на рисунке 10 и показывающего зависимость между полученными экспериментально % слияний мембран при предшествующей инкубации вирусов с **TZV**, **TZV-OH**, **Et**, **Pr**, и расчетными изменениями энергий Гиббса реакции протонирования и депротонирования анион-радикала молекул, можно предположить, что вычисленные теоретически параметры достоверно объясняют экспериментально наблюдаемый результат: чем отрицательнее значение изменения энергии Гиббса реакции, тем выше биологическая активность соединения. Это еще раз подтверждает возможность использования комбинированного подхода для выявления «соединения – лидеров».

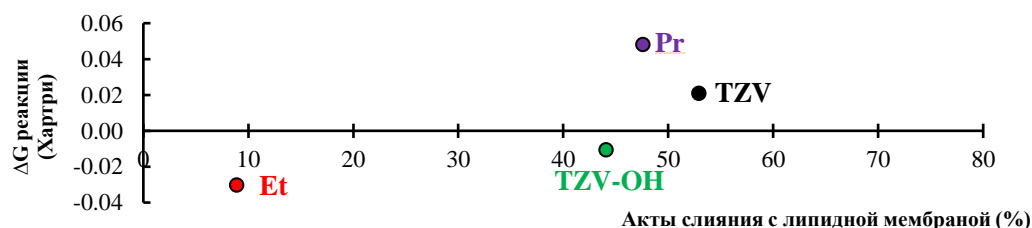


Рисунок 10 – Зависимость изменения энергии протонирования анион-радикала молекул соединений (**TZV**, **TZV-OH**, **Et**, **Pr**,) и депротонирования молекулы от количества актов слияния вируса гриппа А (штамм А/PR/8/34) с бислойнными липидными мембранами

**Шестая глава** включает в себя исследования по разработке методики вольтамперометрического определения **Et**, на СУЭ и ТУЭ. В качестве АС была выбрана площадь под первым пиком ЭВ нитрогруппы **Et**, в рабочей среде ББР (рН 7,0) в условиях химического удаления кислорода. Проведен выбор режима и его параметров для регистрации вольтамперограмм **Et**.

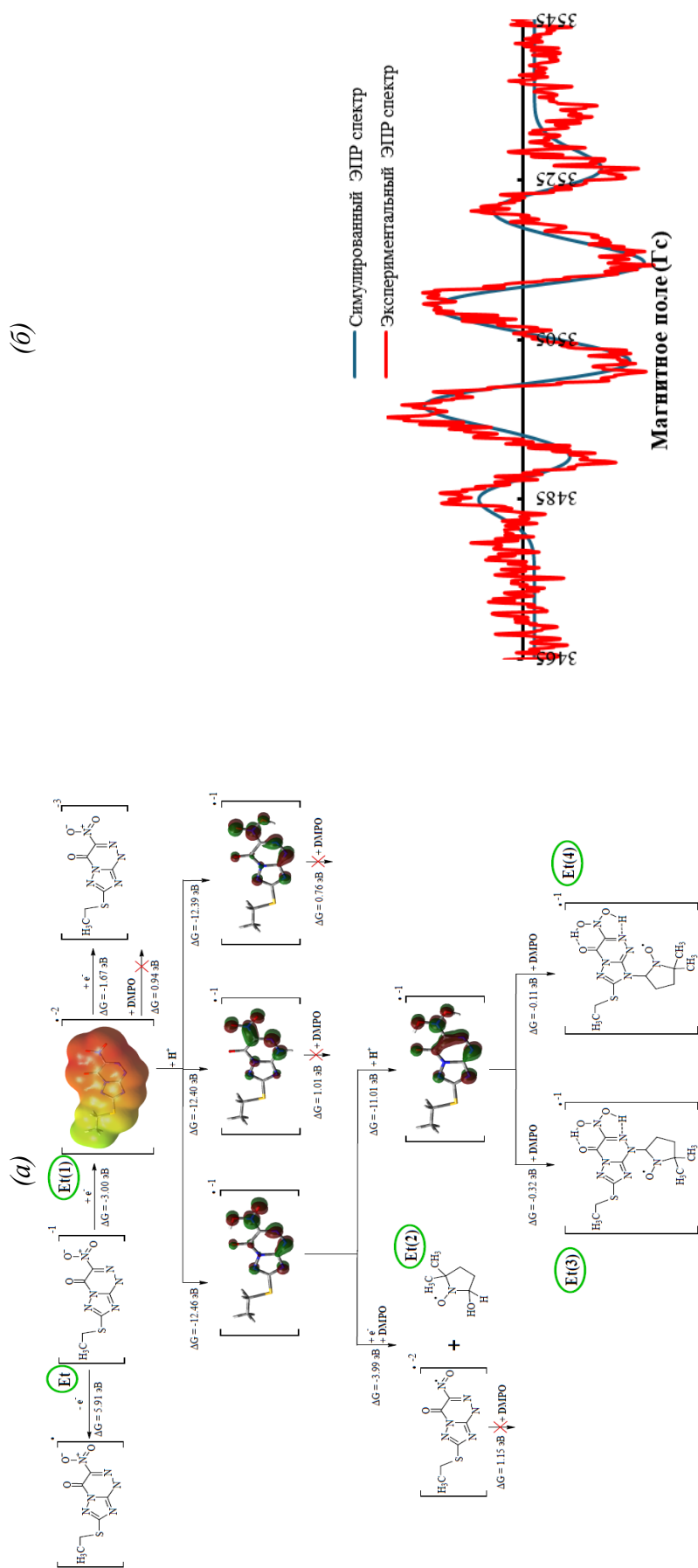


Рисунок 8 – Вероятный путь электровосстановления соединения **Et** (a) в апротонной среде и (b) зарегистрированный ЭПР-спектр аддуктов спиновой ловушки DMPO с продуктами восстановления соединения в ДМФА с совмещенным симулированным ЭПР-спектром предполагаемых аддуктов

Полученные результаты показывают, что АС **Et** на СУЭ линейно зависит от концентрации в диапазоне 10–300 мг/дм<sup>3</sup> ( $S$  (мкКл) = (0,018±0,004)  $C$  (мг/дм<sup>3</sup>) – (0,059±0,009) (мкКл),  $R^2 = 0,99$ ). ПО и ПКО были рассчитаны из уравнения градуировочной зависимости в диапазонах концентрации от 10 до 50 мг/дм<sup>3</sup> **Et**. Полученные данные представлены в таблице 8.

Оценена правильность разработанной методики по методу «введено – найдено». Показатель правильности для различных уровней концентраций близок к 100 % со средним значением  $97,9 \pm 5,2$  %. Значение стандартного отклонения составило 2,9, а относительного стандартного отклонения – 3,2 %.

Таблица 8 – Расчет ПО для **Et** в ББР pH 7,0 с химическим удалением на СУЭ

Параметр	Величина
Диапазон концентрации	10–50 мг/дм <sup>3</sup>
Уравнение прямой	$S$ (мкКл) = (0,015 ± 0,001) $C$ (мг/дм <sup>3</sup> ) + (0,020 ± 0,006) (мкКл)
Коэффициент корреляции	0,99
ПО, мг/дм <sup>3</sup>	1,3
ПКО, мг/дм <sup>3</sup>	4,0

Для автоматизации и миниатюризации процесса анализа при выполнении количественного контроля потенциального ЛС, **Et** применялись толсто пленочные углеродсодержащие электроды. В качестве рабочего электрода выбран ТУЭ на основе чернил марки *Electrodag PF 407C* (рисунок 11, а).

Проведен выбор режима и его параметров для регистрации вольтамперограмм **Et**. Область линейности ГГ в растворе ББР (pH 7,0 ± 0,1) с использованием разработанного метода составляет 10–500 мг/дм<sup>3</sup> ( $I$  (мкА) = (0,206±0,001)  $C$  (мг/дм<sup>3</sup>) + (2,6±0,3) (мкА)  $R^2 = 0,99$ ). Соответствующие вольтамперограммы представлены на рисунке 11, б.

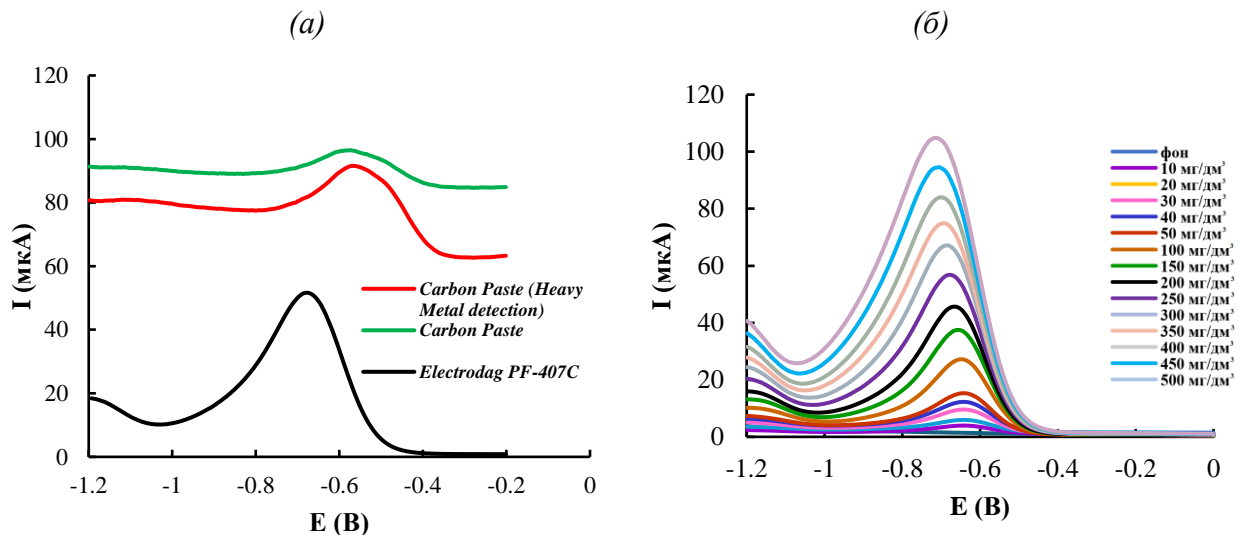


Рисунок 11 – (а) КвВА соединения **Et** ( $C = 250$  мг/дм<sup>3</sup>), зарегистрированные на ТУЭ ( $S = 12,5$  мм<sup>2</sup>) при частоте импульса 35 Гц и амплитуде импульса 0,05 В в растворе ББР pH 7,0±0,1 + 0,04 М Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>; красная линия – *Carbon Paste (Heavy Metal Detection)*, зеленая – *Carbon Paste*, черная – *Electrodag PF-407C*; (б) КвВ ВА соединения **Et**, зарегистрированные на ТУЭ/*Electrodag PF-407* в растворе ББР pH 7,0±0,1 + 0,04 М Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> с добавлением 10, 20, 30, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 мг/дм<sup>3</sup> **Et** со скоростью развертки потенциала 0,1 В/с, амплитудой импульса 50 мВ и частотой 35 Гц ( $n = 5$ ,  $p = 0,95$ )



ПО и ПКО были рассчитаны из уравнения градуировочной зависимости в диапазонах концентрации от 10 до 50 мг/дм<sup>3</sup> **Et**. Полученные данные представлены в таблице 9. Оценена правильность разработанной методики по методу «введено – найдено». Показатель правильности для различных уровней концентраций близок к 100 % со средним значением  $98,8 \pm 2,7$  %. Значение стандартного отклонения составило 2,7, а относительного стандартного отклонения – 2,8 %.

Таблица 9 – Расчет ПО для **Et** в ББР рН 7,0 с химическим удалением на ТУЭ/ Electrodag PF-407

Параметр	Величина
Диапазон концентрации	10–50 мг/дм <sup>3</sup>
Уравнение прямой	$I \text{ (мкА)} = (0,206 \pm 0,001) C \text{ (мг/дм}^3\text{)} + (2,62 \pm 0,31) \text{ (мкА)}$
Коэффициент корреляции	0,99
ПО, мг/дм <sup>3</sup>	1,2
ПКО, мг/дм <sup>3</sup>	3,6

Использование в качестве рабочего электрода ТУЭ позволяет получить ГГ, не уступающий по своим характеристикам ГГ для СУЭ, и увеличить диапазон определяемых концентраций при существенном сокращении времени анализа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Показано, что необратимое четырехэлектронное восстановление натриевой соли 3-нитро-4-**оксо**-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазионида дигидрата (**Et**), натриевой соли 3-нитро-4-**оксо**-7-пропилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазионида дигидрата (**Pr**), натриевой соли 3-нитро-4-**оксо**-7-бутилтио-[1,2,4]триазоло-[5,1-с][1,2,4]триазионида дигидрата (**Bu**) протекает в **две ступени**, а у натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазионида моногидрата (**TZV-OH**) в **одну**, через образование анион-радикалов до гидроксиламинов, аминов и продуктов димерного строения. Электровосстановление **всех соединений** происходит в виде протонированных частиц в водной среде, в апротонной среде – в виде ионных пар с катионами натрия.

2. Показано, что несмотря на структурную схожесть соединений, кинетика их электропревращений различна: для **Et** и **TZV-OH** реакция лимитируется диффузией, у **Pr**, **Bu** – диффузией, осложненной предшествующей химической реакцией. Установлено наибольшее количество интермедиатов радикальной природы, образующихся в процессе электровосстановления, у **Et** и **TZV-OH**. Согласно расчетным данным, для **TZV-OH** требуется на одну стадию протонирования анион-радикала больше, чем для **Et**, **Pr**, **Bu**. По результатам вирусного слияния с модельными липидными мембранами *in vitro* выстроена последовательность, указывающая на возрастание возможной биологической активности **Et** > **TZV-OH** > **Pr**.

3. Предложен комплексный подход для исследования соединений из ряда натриевых солей 3-нитро-4-**X-7R**-тио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазионидов инструментальными и расчетными методами. Показано, что диффузионный характер кинетики электродной реакции приводит к образованию большего количества интермедиатов радикальной природы, что, вероятно, является одной из причин, обуславливающей большую биофизическую активность соединений. Выделены два «соединения-лидера» – натриевая соль 3-нитро-4-**оксо**-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазионида дигидрата (**Et**) и натриевая соль 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазионида моногидрата (**TZV-OH**).



4. Разработана методика вольтамперометрического определения **TZV-ОН** в условиях химического удаления кислорода в растворе с нейтральным рН-среды на стеклоуглеродном электроде с использованием режима прямой квадратно-волновой вольтамперометрии в диапазоне концентраций 10–300 мг/дм<sup>3</sup> с пределом обнаружения – 1,7 мг/дм<sup>3</sup> и пределом количественного определения – 5,2 мг/дм<sup>3</sup>. В рамках выбранного диапазона была оценена правильность разработанной методики.

5. Разработана методика вольтамперометрического определения **Et** в условиях химического удаления кислорода в растворе с нейтральным рН среды на толстопленочном углеродсодержащем электроде с использованием режима прямой квадратно-волновой вольтамперометрии в диапазоне концентраций 10–500 мг/дм<sup>3</sup> с пределом обнаружения – 1,2 мг/дм<sup>3</sup> и предел количественного определения – 3,6 мг/дм<sup>3</sup>. В рамках выбранного диапазона была оценена правильность разработанной методики.

**Перспективы дальнейшей разработки темы** в указанном научном направлении связаны с расширением веществ азолазинового ряда, различающихся структурно заместителями/противоионами и т.д., и скрупулезного установления взаимосвязи «структура – физико-химические свойства – возможная противовирусная активность». Апробация предложенного комплексного подхода на представленных молекулах, позволит определить параметры для создания программы нейронной сети, позволяющей провести оценку возможной активности молекул до стадии их испытания *in vitro* на клеточных линиях. Дальнейшее исследование включает: расширение круга изучаемых объектов и нозологию с целью создания единой методологии комплексного исследования веществ для поиска «соединения-лидера» и разработок методик их количественного определения.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК РФ и Аттестационным советом УрФУ*

1. **Mozharovskaia, P. N.** The electrochemical behavior's character of a potential antiviral drug 3-nitro-4-hydroxy-7-methylthio-4H-[1,2,4]triazolo[5,1-c][1,2,4]triazinide monohydrate / **P. N. Mozharovskaia**, A. V. Ivoilova, R. A. Drokin, A. V Ivanova, A. N Kozitsina, V. L Rusinov // *Chimica Techno Acta* . – 2022. Vol.9, Iss.4. – No. 20229426. (0,35 п. л./0,06 п. л.) (*Scopus*).

2. **Можаровская, П. Н.** Вольтамперометрическое определение натриевой соли 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата как потенциального противовирусного лекарственного средства / **П. Н. Можаровская**, А. В Ивойлова, Т. В. Демьянович (Селянина), И. А. Балин, Н. А. Малахова, А. В. Иванова, А. Н. Козицина, А. И. Матерн, В. Л. Русинов // *Журнал аналитической химии*. – 2023. – Т. 78, №. 12. – С. 1144–1150. (0,4 п. л./0,05 п. л.).

**Mozharovskaia, P. N.** Voltammetric Determination of 7-Ethylthio-3-Nitro-1,2,4-Triazolo[5,1-c]-1,2,4-Triazin-4-One Dihydrate Sodium Salt as a Potential Antiviral Drug / **P. N. Mozharovskaia**, A. V. Ivoilova, T. V. Dem'yanovich (Selyanina), I. A. Balin, N. A. Malakhova, A. V. Ivanova, A. N. Kozitsina, A. I. Matern, V. L. Rusinov // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2023. – Vol.78. Is. – 12. – P. 1688–1693. (0,4 п. л./0,05 п. л.) (*Scopus, Web of Science*)

3. **Mozharovskaia, P. N.** Voltammetric Determination of a Potential Antiviral Drug Sodium Salt of 3-Nitro-4-Hydroxy-7-Methylthio-4H-[1,2,4]Triazolo[5,1-c][1,2,4]Triazinide Monohydrate / **P. N. Mozharovskaia**, A. V. Ivoilova, N. A. Malakhova, R. A. Drokin, I. A. Balin, A. N. Kozitsina, A. V. Ivanova, V. L. Rusinov // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2024. – Vol. 79. – Is. – 6. – P.733–739. (0,4 п. л./0,05 п. л.) (*Scopus, Web of Science*)

## Другие публикации

4. **Можаровская, П. Н.** Исследование окислительно-восстановительных превращений потенциального лекарственного вещества натриевой соли 2-этилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло-[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она с использованием стеклогуглеродного электрода / П. Н. Можаровская, А. В. Ивойлова, А. Н. Козицина, А. В. Иванова, В. Л. Русинов // Сборник тезисов V Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов». – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2021. – PR-28. (0,060 п. л./0,012 п. л.).

5. **Можаровская, П. Н.** Исследование лимитирующей стадии электропревращения потенциального противовирусного лекарственного вещества натриевой соли 2-метилтио-6-нитро-7-гидрокси-4Н-1,2,4-триазоло-4,7-дигидро[5,1-с]-1,2,4-триазинид моногидрата методами вольтамперометрии / П. Н. Можаровская, А. В. Ивойлова, А. В. Иванова, А. Н. Козицина, В. Л. Русинов // Сборник тезисов XXXII Российской молодежной научной конференции с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии». – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2022. – С. 111. (0,060 п. л./0,012 п. л.).

6. Балин, И. А. Изучение интермедиатов электрохимического восстановления натриевой соли 2-метилтио-6-нитро-7-гидрокси-4Н-1,2,4-триазоло-4,7-дигидро[5,1-с]-1,2,4-триазинида комбинированными методами / И. А. Балин, А. Н. Цмокалюк, **П. Н. Можаровская**, А. Н. Козицина, А. В. Иванова, В. Л. Русинов // Сборник тезисов VI Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов». – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2022. – XII- 47. (0,060 п. л./0,010 п. л.).

7. **Можаровская, П. Н.** Механизм электропревращения и вольтамперометрическое определение натриевой соли 2-метилтио-6-нитро-7-гидрокси-4Н-1,2,4-триазоло-4,7-дигидро[5,1-с]-1,2,4-триазинид моногидрата / П. Н. Можаровская, А. В. Ивойлова, И. А. Балин, А. Н. Цмокалюк, Р. А. Дрокин, А. В. Иванова, А. Н. Козицина, В. Л. Русинов // Сборник тезисов VII Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов». – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2023. – С. 111. (0,060 п. л./0,008 п. л.).

8. Балин, И. А. Радиальные интермедиаты электрохимического восстановления натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]-триазинида моногидрата / И. А. Балин, А. Н. Цмокалюк, **П. Н. Можаровская**, А. Н. Козицина, А. В. Иванова, В. Л. Русинов // Сборник тезисов XXXIII Российской молодежной научной конференции с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии». – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2023. – С. 95. (0,060 п. л./0,012 п. л.).

9. Лиля, Н. Я. Потенциометрическое определение кислотной константы диссоциации соединений из ряда азолазинов / Н. Я. Лиля, **П. Н. Можаровская**, А. В. Ивойлова, А. Н. Козицина, А. В. Иванова, В. Л. Русинов // Сборник тезисов XXXIII Российской молодежной научной конференции с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии». – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2023. – С. 142. (0,060 п. л./0,010 п. л.).

10. **Можаровская, П. Н.** Расчет количества электронов, участвующих в электровосстановлении структурных аналогов Триазавирина, методами вольтамперометрии / П. Н. Можаровская, А. В. Ивойлова, А. В. Иванова, А. Н. Козицина, В. Л. Русинов // Сборник тезисов XXXIII Российской молодежной научной конференции с международным участием «Проблемы теоретической и экспериментальной химии». – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2023. – С. 148. (0,060 п. л./0,012 п. л.).

11. Терехова, А. А. Исследование процесса восстановления нитрогруппы натриевой соли 2-этилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она с использованием электрохимических методов и ЭПР-спектроскопии / А. А. Терехова, **П. Н. Можаровская**, А. В. Ивойлова, А. Н. Цмокалюк, А. В. Иванова, А. Н. Козицина, В. Л. Русинов // Сборник тезисов I Всероссийская конференция «Органические радикалы: фундаментальные и прикладные аспекты». – Москва : ИОХ РАН, 2021. – С. 58–59. (0,060 п. л./0,009 п. л.).

12. **Можаровская, П. Н.** Вольтамперометрическое определение структурных аналогов Триазавирина® – нитротриазолотриазинов. Методология комплексного исследования вероятных механизмов их электропревращений / П. Н. Можаровская, А. В. Ивойлова, И. А. Балин, А. Н. Цмокалюк, Р. А. Дрокин, С. К. Котовская, А. В. Иванова, В. Л. Русинов, А. Н. Козицина // Сборник тезисов XI Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа. – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2024. – С. 81. (0,060 п. л./0,020 п. л.).

13. **Можаровская, П. Н.** Методология комплексного исследования вероятных путей превращений структурных аналогов Триазавирина® / П. Н. Можаровская, А. В. Ивойлова, И. А. Балин, А. Н. Цмокалюк, А. В. Иванова, З. Г. Дениева, Е. С. Булавко, О. В. Батищев, В. Л. Русинов, А. Н. Козицина // Сборник тезисов VIII Международной конференции «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов». – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2024. – R-109. (0,060 п. л./0,010 п. л.).