

УДК 543.552

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАТРИЕВОЙ СОЛИ 7-ЭТИЛТИО-3-НИТРО-1,2,4-ТРИАЗОЛО[5,1-*c*]-1,2,4-ТРИАЗИН-4-ОНА ДИГИДРАТА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

© 2023 г. П. Н. Можаровская^{а, *}, А. В. Ивойлова^а, Т. В. Демьянович (Селянина)^а, И. А. Балин^а, Н. А. Малахова^а, А. В. Иванова^а, А. Н. Козицина^а, А. И. Матерн^а, В. Л. Русинов^{а, б}

^аУральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина
Мира ул., 19, Екатеринбург, 620002 Россия

^бИнститут органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук
Софьи Ковалевской ул., 22, Екатеринбург, 620137 Россия

*e-mail: pntozharovskaia@urfu.ru

Поступила в редакцию 10.05.2023 г.

После доработки 19.06.2023 г.

Принята к публикации 27.06.2023 г.

Натриевая соль 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата (**1**) относится к числу перспективных противовирусных соединений, проявивших выраженную биологическую активность в отношении вируса гриппа подтипа H5N1, Западного Нила и ТОРС (тяжелый острый респираторный синдром). С помощью метода циклической вольтамперометрии показано, что электрохимическая активность соединения **1** в буферном растворе Бриттона–Робинсона (ББР) с рН 2.0 на стеклоуглеродном электроде обусловлена электровосстановлением нитрогруппы, сопряженной с гетероциклической системой. Разработан способ определения соединения **1** методом прямой катодной квадратно-волновой вольтамперометрии. Область линейности градуировочного графика в растворе ББР с рН 7.0 составляет 10–300 мг/л ($R^2 = 0.999$), предел обнаружения – 1.5 мг/л, предел количественного определения – 4.5 мг/л. Правильность разработанной методики близка к 100%, относительное стандартное отклонение составило 3.6%.

Ключевые слова: количественный анализ вещества, квадратно-волновая вольтамерометрия, азолазины, нитрогруппа, стеклоуглеродный электрод, противовирусный препарат.

DOI: 10.31857/S0044450223120125, EDN: EITUWD

Пандемия коронавируса во всем мире наглядно показала постоянную изменчивость вирусов и невысокую эффективность существующих лекарственных средств по отношению к ним. Существует острая необходимость в создании новых, оригинальных лекарственных средств, обладающих более высокой биологической активностью по сравнению с имеющимися.

В настоящее время образовалась определенная фармакологическая ниша препаратов на основе нитросоединений, обладающих широким спектром биологической активности, начиная от противомикробной и заканчивая противоопухолевой. В частности, большое внимание привлекают нитросоединения ароматической и гетероциклической природы, так как они широко используются во всем мире в качестве противовирусных, противопаразитарных и радиосенсибилизирующих средств [1].

В медицинской химии растет интерес к классу азолазинов, поскольку показано, что соединения данного класса обладают биологической активностью, что, вероятно, обусловлено их сходством с нуклеиновыми основаниями [2].

Сотрудниками УрФУ и ИОС УрО РАН разработаны нитросодержащие азолазиниевые соединения. К ним относится зарегистрированный на территории РФ противовирусный препарат – Триазавирин®, который успешно применяется при лечении гриппа, ОРВИ, клещевого энцефалита. Препарат оказался эффективным и по отношению к возникшим новым штаммам вируса из семейства коронавирусов [3–5]. Натриевая соль 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-*c*]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата (соединение **1**) является структурным аналогом Триазавирин® и обладает биологической активностью в отношении вируса гриппа подтипа H5N1, Западного Нила, в отношении вируса ТОРС (тяжелый острый респи-

раторный синдром) [6]. В настоящее время данный препарат находится на этапе доклинических испытаний, контроль качества данного вещества необходим при его производстве. Следует отметить, что способы определения исследуемого нового синтезированного соединения **1** не описаны, поэтому разработка методики его определения является актуальной задачей.

Наличие электроактивной нитрогруппы в молекуле соединения **1** позволяет использовать электрохимические методы анализа для создания методик его определения. Один из информативных электрохимических методов анализа – вольтамперометрия, которая не уступает по чувствительности и селективности методу высокоэффективной жидкостной хроматографии в случае простых матриц, к которым можно отнести лекарственные средства. К преимуществам вольтамперометрии можно также отнести использование нетоксичных растворителей при определении водорастворимых соединений, экспрессность и простоту метода [7].

Электропревращения соединений нитроароматического ряда достаточно широко описаны в литературе [8, 9]. Однако соединения нитрогетероциклического ряда представлены слабо, и, как показывают многие авторы [10–12], на аналитический сигнал восстановления нитрогруппы зна-

чительное влияние оказывают не только pH среды и наличие растворенного кислорода, но и положение заместителей в молекуле вещества. В связи с этим для каждого вещества с оригинальными молекулами требуется индивидуальный подход при создании способа определения.

Цель данной работы – разработка методики определения потенциального лекарственного вещества – натриевой соли 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата – методом вольтамперометрии с использованием стеклоуглеродного электрода.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реактивы и образцы. Натриевую соль 7-этилтио-3-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-4-она дигидрата (**1**); натриевую соль 3-нитро-4-оксо-7-метилсульфанил-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин дигидрата (**2**); 3-нитро-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин-4(1H)-он (**3**); 3-бromo-4-оксо-1,2,4-триазоло[1,2,4]триазин (**4**) синтезировали сотрудники кафедры органической и бимолекулярной химии УрФУ (схема 1). Структуру соединений подтверждали методами ЯМР-, ИК- и УФ-спектроскопии и элементного анализа [13, 14].

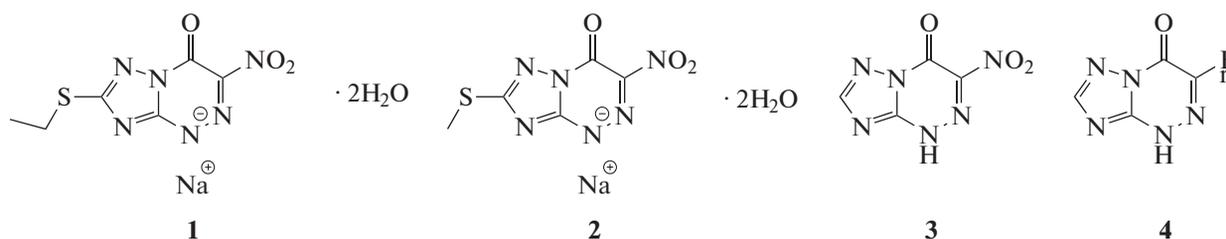


Схема 1. Структурные формулы соединений **1–4**.

Для исследования процессов электровосстановления веществ использовали водные буферные растворы Бриттона–Робинсона (ББР), которые готовили согласно рекомендациям [15]. Использовали кислоты и соли х. ч. (Химреактивснаб, Россия) без дополнительной очистки. Для приготовления растворов использовали деионизованную воду, полученную на установке ДВС-М/1НА(18)-N (Медиана фильтр, Россия). Рабочий раствор с концентрацией 5 г/л готовили растворением навески ($m = 0.005$ г) в 1 мл ББР с pH 7.0 в пробирке Эппендорфа и хранили в темноте при комнатной температуре.

Электрохимические приборы. Для регистрации циклических вольтамперограмм (ЦВА) и вольтамперограмм (ВА) использовали потенциостат/гальваностат μ Autolab Type III (Metrohm, Швейцария). Рабочим электрод служил стеклоуглеродный диск

(Metrohm, Швейцария) ($S = 0.07$ см² для регистрации ЦВА и $S = 0.0314$ см² для регистрации ВА в различных режимах). Для полировки поверхности стеклоуглеродного электрода (СУЭ) применяли набор kit 62802010 (Metrohm, Швейцария), включающий оксид алюминия с дисперсностью частиц 0.3 мкм и тканевую подложку. В качестве вспомогательного электрода использовали стержень из стеклоуглерода (Metrohm, Швейцария). Хлорид-серебряный электрод Ag/AgCl/KCl_{sat} (Metrohm, Швейцария) служил электродом сравнения.

Методика эксперимента. Перед анализом поверхность индикаторного СУЭ полировали с помощью суспензии оксида алюминия. Перед регистрацией ВА удаляли растворенный кислород двумя способами: или физически – продуванием инертным газом аргоном, или химически – добавлением в ячейку с фоновым электролитом

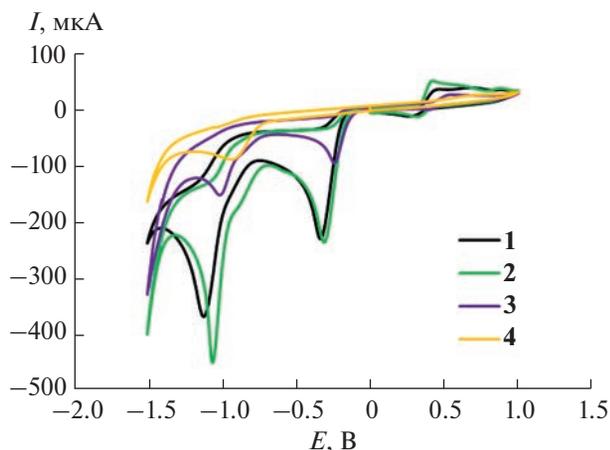


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы 5 мМ соединений **1–4**, зарегистрированные на стеклоуглеродном электроде ($S = 7.065 \text{ мм}^2$) в растворе Бриттона–Робинсона с рН 2.0 при скорости сканирования 0.1 В/с.

объемом 10 мл 0.4 мл 1 М раствора Na_2SO_3 [16, 17]. Затем опускали электроды в раствор и регистрировали ВА. Параметры регистрации ВА в дифференциально-импульсном режиме (ДИП): амплитуда 0.04 В, скорость 0.1 В/с, шаг 0.005 В; в квадратно-волновом (КВВ) режиме: частота 35 Гц, амплитуда 0.05 В, скорость 0.1 В/с. После регистрации каждой ВА СУЭ выдерживали в течение 3 мин при потенциале 0.0 В.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электрохимическое поведение соединений 1–4. Методом циклической вольтамперометрии в ББР при рН 2 на СУЭ исследовали электрохимическое поведение соединений **1–4** (рис. 1). Как видно, соединения **1–3**, содержащие в своей структуре нитрогруппы, дают два последовательных пика восстановления. Первый пик находится в диа-

пазоне потенциалов от -0.2 до -0.3 В, второй — от -1.0 до -1.1 В. При этом соединение **4**, содержащее в своей структуре атом брома вместо нитрогруппы, дает один пик восстановления в диапазоне от -0.8 до -1.2 В. Таким образом, можно предположить, что пики восстановления исследуемого соединения **1** обусловлены восстановлением нитрогруппы.

Влияние рН растворов на ток и потенциал восстановления соединения 1 исследовали в диапазоне рН от 2 до 11. С увеличением рН раствора от 2 до 8 уменьшается величина тока пика восстановления нитрогруппы соединения **1** (рис. 2а), а значения потенциалов пиков сдвигаются в катодную область (рис. 2б). Известно [18], что реакция восстановления нитрогруппы сопровождается предшествующей протонизацией. С ростом рН раствора, вероятно, скорость процесса восстановления замедляется и присоединение протонов и электронов происходит труднее. В щелочной среде в диапазоне рН от 8 до 11 кислотность среды на величину тока и потенциала не влияет — ток и потенциал восстановления стабилизируются.

Стоит отметить, что растворенный кислород не влияет на величину тока восстановления соединения **1**, но существенно ухудшает его повторяемость для контрольных точек при рН 2.0 и 7.0. Так, величина тока без продувки при рН 2.0 имеет значения (109.1 ± 6.4) мкА, а при рН 7.0 (72.7 ± 3.6) мкА. В случае физического удаления кислорода величина тока при рН 2.0 составляет (114.1 ± 1.8) мкА, 7.0 — (72.7 ± 2.0) мкА. Стандартные отклонения в отсутствие продувки составляют при рН 2.0 5.3%, рН 7.0 — 7.4%, а с продувкой 1.8 и 1.5% соответственно. Данные результаты показывают необходимость использования процедуры удаления кислорода.

Удаление кислорода не оказывает значительного влияния на значения потенциала пика вос-

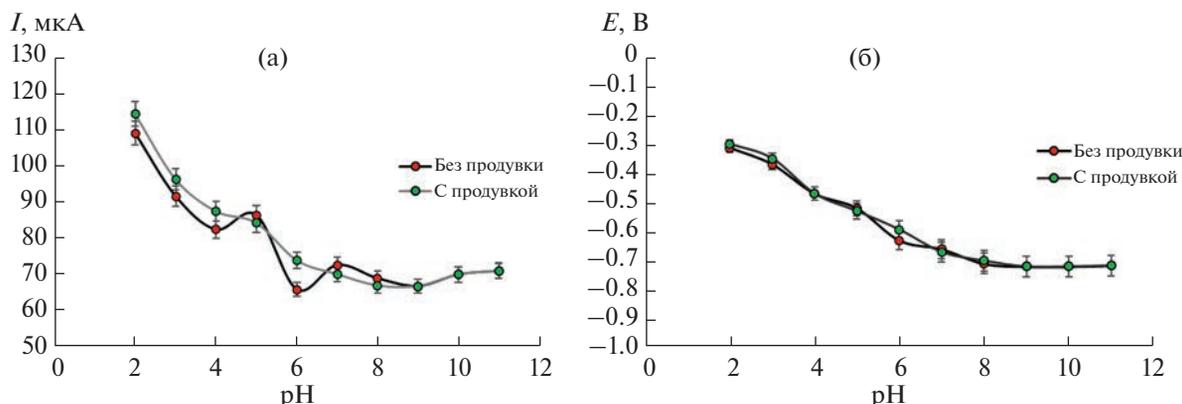


Рис. 2. Зависимость величины тока первого пика восстановления (а) и значения его потенциала (б) от рН среды для 5 мМ соединения **1**. Вольтамперограммы регистрировали в линейном режиме со скоростью сканирования 0.10 В/с.

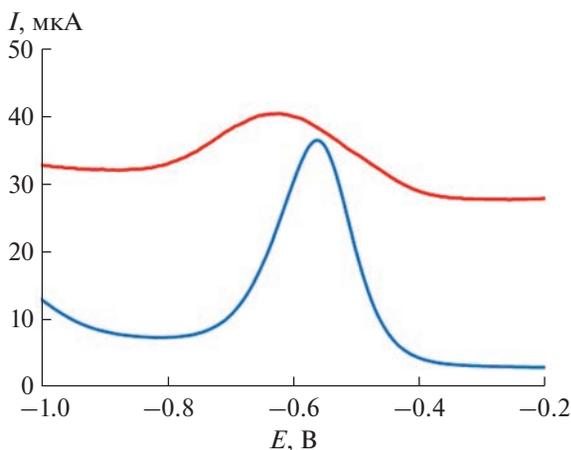


Рис. 3. Катодные вольтамперограммы соединения **1** ($c = 250$ мг/л), зарегистрированные на стеклоуглеродном электроде ($S = 3.14$ мм²) в буферном растворе Бриттона–Робинсона с рН 7.0 с химическим удалением кислорода. Красная линия – дифференциально-импульсный режим (амплитуда 0.04 В, шаг 0.005 В), синяя линия – квадратно-волновой режим (частота 35 Гц, амплитуда 0.05 В). Скорость скорости сканирования в обоих случаях 0.1 В/с.

становления исследуемого вещества, что видно из рис. 2б.

С целью экономии времени на производстве при выполнении количественного контроля лекарственного средства предложена процедура удаления кислорода посредством добавления раствора сульфита натрия при рН 7.0. Данный способ использовали авторы работ [16, 17] при определении соединения из ряда нитроазолоазинов – 5-метил-6-нитро-7-оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинида моногидрата L-аргинина, являющегося потенциальным противовирусным препаратом и структурным аналогом Триазавирина®.

Степень близости результатов и чувствительность аналитического сигнала (как тока восстановления, так и площади под пиком) при использовании химического способа удаления кислорода выше, чем в случае дорогостоящего инертного газа, внедрение конструкции для продувания которого в электрохимическую ячейку представляет некоторые трудности. При сравнении уравнений регрессии зависимости тока от концентрации с использованием химического способа ($I = -7.50c + 122.09$, $R^2 = 0.9292$) и физического ($I = -6.25c + 113.76$, $R^2 = 0.8025$) видно, что величина R^2 и чувствительность метода выше при использовании химического способа удаления растворенного кислорода.

Описанные преимущества использования фонового электролита при рН 7.0 с химическим удалением кислорода перевешивают тот факт, что величина тока, используемая в качестве аналити-

ческого сигнала, при рН 2.0 больше. Далее в качестве рабочих условия выбрали среду ББР с рН 7.0 и химическое удаление кислорода.

Выбор режима вольтамперометрических измерений. Предварительная выдержка СУЭ в перемешиваемом ББР с добавлением 100 мг/л соединения **1** в течение 300 с в интервале потенциалов 1.0–0.1 В, в котором соединение **1** электрохимически неактивно, не приводит к увеличению величины тока/площади под пиком за счет возможной адсорбции аналита на поверхности индикаторного электрода. Это позволяет использовать метод прямой вольтамперометрии для определения соединения **1**.

На рис. 3 приведены ВА соединения **1**, зарегистрированные на СУЭ в ДИП- и КвВ-режимах. Сравнение различных вольтамперометрических режимов при одной и той же скорости сканирования позволяют заключить, что квадратно-волновой режим является предпочтительным для регистрации токов восстановления соединения **1** в ББР при рН 7.0. В случае КвВ пик более симметричный по сравнению с режимом ДИП и может быть измерен с высокой точностью. Величина тока пика восстановления в КвВ-режиме в 2.3 раза выше, чем в ДИП. Таким образом, дальнейшие исследования проводили в режиме КвВ.

Оптимизация параметров квадратно-волновой развертки потенциала. Величина тока пика восстановления/площади пика в режиме КвВ зависит от инструментальных параметров, таких как частота амплитуды, шаг импульса и амплитуда импульса.

Зависимость величины тока восстановления соединения **1** от частоты импульсов при амплитуде импульса 0.05 В и шаге импульса 0.005 В линейна в области от 5 до 50 Гц. При дальнейшем увеличении частоты величина тока не возрастает. При этом увеличение сигнала по абсолютной величине в диапазоне частот от 35 до 50 Гц незначительно (не превышает 4%), а отношение полезный сигнал/остаточный ток снижается почти в два раза, что усложняет регистрацию пика соединения **1** и ухудшает воспроизводимость полученных результатов. В связи с этим для аналитических целей выбрали частоту 35 Гц.

Величина тока восстановления соединения **1** при частоте импульса 35 Гц, шаге развертки 0.005 В и скорости сканирования 0.1 В/с линейно увеличивается при увеличении амплитуды импульса от 0.02 до 0.05 мВ. Дальнейшее увеличение амплитуды импульса приводит к уменьшению величины тока пика восстановления соединения **1** (рис. 4а).

Как видно из рис. 4б величина тока восстановления соединения **1** возрастает в интервале скоростей сканирования от 0.05 до 0.10 В/с, после чего рост замедляется. Для повышения экспрессности измерений выбрали скорость развертки 0.15 В/с.

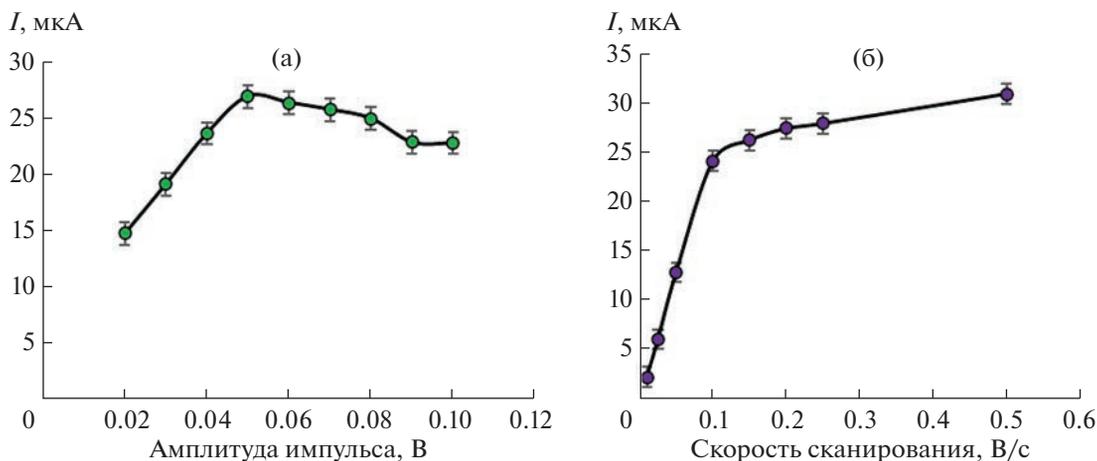


Рис. 4. Зависимости аналитического сигнала для 250 мг/л соединения **1** от амплитуды импульса (а) и от скорости сканирования потенциала (б), полученные в буферном растворе Бриттона–Робинсона с pH 7.0 + 0.04 М Na₂SO₃ с использованием квадратно-волнового режима. Условия регистрации: шаг развертки 0.005 В, амплитуда импульса 0.05 В и скорость сканирования 0.10 В/с.

Таким образом, для аналитических целей выбрали амплитуду импульса 0.05 В, частоту импульса 35 Гц, скорость сканирования 0.15 В/с.

Характеристики градуировочного графика для определения соединения **1 на стеклоуглеродном электроде.** При оптимальных условиях регистрации величина тока восстановления и площадь пика соединения **1** линейно растут в интервале 10–300 мг/л, на что указывают коэффициенты детерминации уравнений I (мкА) = $(0.110 \pm 0.003)c + (0.14 \pm 0.05)$ и $S = (0.0179 \pm 0.004)c - (0.059 \pm 0.009)$, которые в обоих случаях равны $R^2 = 0.999$. В качестве аналитического сигнала (АС) использовали величину тока восстановления, поскольку в этом случае чувствительность методики выше, чем при использовании площади под пиком (см уравнения, представленные выше). На рис. 5 приведены соответствующие КвВ-вольтамперограммы для разных концентраций соединения **1** в растворе. Как видно, пики с увеличением концентрации растут симметрично, величина тока имеет высокие значения, значение полуширины пика остается постоянным. Все это указывает на правильность выбора параметров для регистрации АС. Предел обнаружения, рассчитанный по градуировочной кривой в диапазоне концентрации от 10 до 50 мг/л, составляет 1.5 мг/л, предел количественного определения 4.5 мг/л.

Для определения повторяемости разработанной методики регистрировали 10 вольтамперограмм соединения **1** при концентрации 100 мг/л на одном и том же электроде и в растворе. Установлено, что величина тока восстановления имеет значение (11.37 ± 0.04) мкА. Стандартное отклонение составило 2.5%, что предполагает хорошую сходимость результатов.

Оценка правильности разработанной методики определения соединения **1** в стандартном образце.

Показатель правильности рассчитывали для уровней концентраций соединения **1** 50 и 250 мг/л по методу введено–найдено, каждое определение повторяли три раза (табл. 1). Показатель правильности для различных уровней концентраций близок к 100%. Среднее значение степени открытия (R) составило 96.8 ± 3.7 . Доверительный интервал среднего результата анализа включает значение 100%. Значение относительного стандартного отклонения составило 3.6%.

Разработан способ определения соединения из ряда нитроазолозинов, являющегося потенциальным противовирусным лекарственным средством. Результаты исследования превращений 3-*R*-4-оксо-7-*X*-1,2,4-триазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов с использованием электрохимических ме-

Таблица 1. Метрологические характеристики, полученные при оценке правильности результатов определения соединения **1** ($n = 6$)

Метрологическая характеристика	Значение
Среднее значение R , %	96.8
Стандартное отклонение	3.7
Относительное стандартное отклонение среднего результата, %	3.6
Нижняя граница доверительного интервала среднего результата ($P = 0.95$)	93.1
Верхняя граница доверительного интервала среднего результата ($P = 0.95$)	100.6

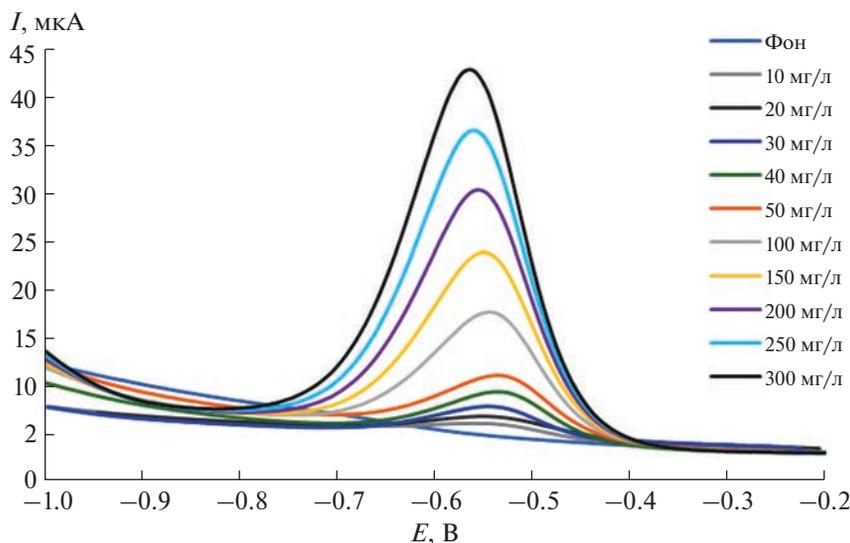


Рис. 5. Квадратно-волновые вольтамперограммы соединения **1** в буферном растворе Бриттона–Робинсона с pH 7, зарегистрированные на стеклоуглеродном электроде ($S = 3.14 \text{ мм}^2$) со скоростью сканирования потенциала 0.15 В/с, амплитудой импульса 50 мВ и частотой 35 Гц ($n = 5$, $P = 0.95$).

тодов показали, что соединения, содержащие нитрогруппу, подвергаются необратимому процессу восстановления в диапазоне потенциалов от -0.28 до -0.33 В (отн. Ag/AgCl) в буферном растворе Бриттона–Робинсона при pH 2.0 на СУЭ. Изучено влияние растворенного кислорода на ток и потенциал пика восстановления исследуемого соединения. Для сокращения продолжительности анализа использовали раствор сульфата натрия для связывания растворенного кислорода. В качестве рабочего для регистрации вольтамперограммы выбрали квадратно-волновой режим. Область линейности градуировочного графика с использованием разработанного способа для СУЭ составляет 10–300 мг/л: $I(\text{мкА}) = (0.110 \pm 0.003)c + (0.14 \pm 0.05)$ с коэффициентом линейной регрессии 0.999. Предел обнаружения, рассчитанный по градуировочному графику, составляет 1.5 мг/л, а предел количественного определения – 4.5 мг/л. Правильность разработанной методики близка к 100%, относительное стандартное отклонение составило 3.6%.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Государственный контракт № FEUZ-2023-0021 (H687.42Б.325/23).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Olender D., Żwawiak J., Zaprutko L. Multidirectional efficacy of [13]gically active nitro compounds included in medicines // *Pharmaceuticals*. 2018. V. 11. № 2. P. 54.
2. Русинов В.Л., Уломский Е.Н., Чупахин О.Н., Чарушин В.Н. Азоло[5,1-с]-1,2,4-триазины – новый класс противовирусных соединений // *Изв. АН. Сер. хим.* 2008. № 5. С. 967. (Rusinov V.L., Ulomskii E.N., Chupakhin O.N., Charushin V.N. Azolo[5,1-c]-1,2,4-triazines as a new class of antiviral compounds // *Russ. Chem. Bull. Int.* 2008. V. 57. P. 985.)
3. Токин И.И., Цветков В.В., Голобоков Г.С. Сравнительная клинко-экономическая оценка двух альтернативных схем противовирусной терапии больных гриппом // *Журнал инфектологии*. 2018. Т. 10. № 2. С. 110. (Tokin I.I., Tsvetkov V.V., Golobokov G.S. Comparative clinical and economic evaluation of two alternative antiviral therapy regimens for influenza patients // *J. Infectol.* 2018. V. 10. № 2. P. 110.)
4. Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю., Андропова А.Е., Тюшевская Н.В., Елистратова О.А., Кузьмин Т.А. Изучение эффективности противовирусных препаратов (умифеновира, триазавирина) в отношении острых респираторных вирусных инфекций // *Казанский медицинский журнал*. 2018. Т. 99. № 2. С. 215.
5. Chupakhin O.N., Rusinov V.L., Varaksin M.V., Ulomskiy E.N., Savateev K.V., Butorin I.I., Du W., Sun Z., Charushin V.N. Triazavirin—A novel effective antiviral drug // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 23. P. 14537.
6. Чупахин О.Н., Русинов В.Л., Уломский Е.Н., Чарушин В.Н., Медведева Н.Р., Киселев О.И., Деева Э.Г., Логинова С.Я., Борисевич С.В., Бондарев В.П. Натриевая соль 2-этилтио-6-нитро-1,2,4-триазоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-7-она дигидрат. Патент РФ № RU 2404182 С2. Заявка 2008128824/04 от 14.07.2008, опублик. 21.01.2010.
7. Малахова Н.А., Иванова А.В., Козицина А.Н., Матерн А.И. Вольтамперометрия в фармацевтическом анализе // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2014. № 2. С. 90.
8. Zuman P., Fijalek Z., Dumanovic D., Sužnjević D. Polarographic and electrochemical studies of some aromatic and heterocyclic nitro compounds, part I: Gen-

- eral mechanistic aspects // *Electroanalysis*. 1992. V. 4. № 8. P. 783.
9. *Baizer M.M., Stocker J.H.* Organic electrochemistry. An introduction and a guide // *J. Electrochem. Soc.* 1974. V. 121. № 3. P. 134C.
10. *Ivoilova A., Mikhalychenko L.V., Tsmokalyuk A., Leonova M., Lalov A., Mozharovskaia P., Kozitsina A.N., Ivanova A.V., Rusinov V.L.* Redox conversions of 5-methyl-6-nitro-7-oxo-4,7-dihydro-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidinide L-arginine monohydrate as a promising antiviral drug // *Molecules*. 2021. V. 26. № 16. P. 5087.
11. *Chua C.K., Pumera M.* Influence of methyl substituent position on redox properties of nitroaromatics related to 2, 4, 6-trinitrotoluene // *Electroanalysis*. 2011. V. 23. № 10. P. 2350.
12. *Дрокин Р.А., Фесенко Е.А., Можаровская П.Н., Медведева М.В., Свалова Т.С., Козицина А.Н., Есаулкова Я.Л., Волобуева А.С., Зарубаев В.В., Русинов В.Л.* 1,3,4-гидрокси-3-нитро-1,4-дигидротриазоло [5,1-с][1,2,4] триазины: синтез, противовирусные свойства и электрохимические характеристики // *Изв. АН. Сер. хим.* 2022. № 11. С. 2460. (*Drokin R.A., Fesenko E.A., Mozharovskaia P.N., Medvedeva M.V., Svalova T.S., Kozitsina A.N., Esaulkova Ya.L., Volobueva A.S., Zarubaev V.V., Rusinov V.L.* 4-Hydroxy-3-nitro-1,4-dihydrotriazolo[5,1-c][1,2,4]triazines: synthesis, antiviral activity, and electrochemical characteristics // *Russ. Chem. Bull.* 2022. V. 71. № 11. P. 2460.)
13. *Русинов В.Л., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н.* Биологически активные азоло-1, 2, 4-триазины и азолопириимидины // *Изв. АН. Сер. хим.* 2018. № 4. С. 573.
14. *Чупахин О.Н., Чарушин В.Н., Русинов В.Л., Уломский Е.Н., Котовская С.К., Киселев О.И.* Натриевая соль 5-метил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пириимидин-7-она дигидрат. Патент РФ №2330036. Заявка 2005120250/04 от 29.06.2005, опубл. 27.07.08.
15. *Britton H.T.S., Robinson R.A.* CXCVIII. — Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal // *J. Chem. Soc. (Resumed)*. 1931. P. 1456.
16. *Ivoilova A., Malakhova N., Mozharovskaia P., Niki-forova A., Tumashov A., Kozitsina A., Ivanova A.V., Rusinov V.L.* Study of different carbonaceous materials as modifiers of screen-printed carbon electrodes for the triazid as potential antiviral drug // *Electroanalysis*. 2022. V. 34. № 11. P. 1745.
17. *Малахова Н.А., Ивойлова А.В., Цмокалюк А.Н., Козицина А.Н., Иванова А.В., Русинов В.Л.* Способ количественного определения триазида методом вольтамперометрии. Патент РФ № 2733397. Заявка 2019104947 от 21.02.2019, опубл. 01.10.2020.
18. *Organic Electrochemistry / Eds. Hammerich O., Speiser B.* Boca Raton, FL: CRC press, 2016. P. 150.