

УДК 543.552

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ  
ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО  
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НАТРИЕВОЙ СОЛИ  
3-НИТРО-4-ГИДРОКСИ-7-МЕТИЛТИО-4Н-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[5,1-с]  
[1,2,4]ТРИАЗИНИД МОНОГИДРАТА**

© 2024 г. П. Н. Можаровская<sup>а,\*</sup>, А. В. Ивойлова<sup>а</sup>, Н. А. Малахова<sup>а</sup>,  
Р. А. Дрокин<sup>а</sup>, И. А. Балин<sup>а</sup>, А. Н. Козицина<sup>а</sup>,  
А. В. Иванова<sup>а</sup>, В. Л. Русинов<sup>а,б</sup>

<sup>а</sup>Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина  
Мира ул., 19, Екатеринбург, 620002 Россия

<sup>б</sup>Институт 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 27.10.2023 г.

После доработки 21.11.2023 г.

Принята к публикации 22.11.2023 г.

Натриевая соль 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинид моногидрата (соединение **1**) – одно из перспективных соединений, показавших потенциальную противовирусную активность по отношению к вирусу Коксаки В3. Методом циклической вольтамперометрии установлено, что электрохимическая активность соединения **1** на стеклоуглеродном электроде в буферном растворе Бриттона–Роббинсона (ББР) обусловлена электровосстановлением нитрогруппы. Разработан способ определения соединения **1** методом прямой катодной квадратно-волновой вольтамперометрии. Область линейности градуировочного графика с использованием разработанного метода в растворе ББР (рН 2.0 ± 0.1) составляет 10–300 мг/л ( $R^2 = 0.999$ ) с пределами обнаружения и определения 1.27 и 4.11 мг/л соответственно.

**Ключевые слова:** количественный анализ вещества, квадратно-волновая вольтамперометрия, азолазины, нитрогруппа, стеклоуглеродный электрод, противовирусное средство, Коксаки В3.

DOI: 10.31857/S0044450224060103, EDN: ttpjjh

Распространение вирусных заболеваний человека наносит существенный социальный и экономический урон обществу. Несмотря на растущее многообразие противовирусных препаратов, на сегодняшний день остаются штаммы вирусов, на которые не одобрено ни одной эффективной терапии. Одним из таких возбудителей является вирус Коксаки В3, главным осложнением после которого является острая сердечная недостаточность [1], поэтому поиск и создание нового, оригинального лекарственного средства, эффективного в отношении данного вируса являются актуальной задачей.

Среди структур, обладающих широким спектром биологической активности, перспектив-

ными являются нитросодержащие азолазиниевые соединения, разработанные в УрФУ и ИОС УрО РАН [2–4]. Первый зарегистрированный на территории РФ противовирусный препарат, созданный на базе этого класса соединений, – Триазавирин® (натриевая соль 3-нитро-4-оксо-7-метилтио-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин дигидрата). В ряду структурных аналогов Триазавирин® представляет интерес соединение **1** (натриевая соль 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинид моногидрата). Методом молекулярного моделирования *in silico* продемонстрировано высокое сродство данного соединения к его потенциальной вирусной биологической мишени – белкам, регулирующим ключевые про-

цессы в жизненном цикле энтеровирусов [5]. Соединение **1** имеет огромный потенциал для выхода на фармацевтический рынок в качестве эффективного лекарственного средства в отношении вируса Коксаки В3.

Одним из ключевых этапов коммерциализации препарата является создание методики его определения для контроля качества продукции на производстве. Более того, наличие готовой методики определения позволяет ускорить процесс создания нового, оригинального лекарственного средства и его появление в аптечной сети.

К инструментальным методам количественного анализа, которые обычно используются в лабораториях фармацевтического контроля, относятся титриметрия, хроматография, спектрофотометрия и электрохимические методы. Титриметрические методы являются ведущими для оценки содержания действующего вещества, но они недостаточно селективны, что постепенно снижает их востребованность в рутинном фармаанализе. Широко используемый метод ВЭЖХ характеризуется высокой стоимостью оборудования и технического сервиса, необходимостью привлечения высококвалифицированного персонала, а также использованием большого количества токсичных растворителей, требующих грамотной утилизации. Современные электрохимические методы анализа набирают популярность в области количественного анализа лекарственных средств на содержание основного вещества и могут стать альтернативой методам титриметрии, спектрофотометрии и ВЭЖХ, поскольку являются простыми, недорогими и лишены недостатков, присущих ВЭЖХ. В некоторых случаях электрохимические методы являются более чувствительными и характеризуются весьма низкими пределами обнаружения и широким диапазоном определяемых концентраций (от  $10^{-12}$  до 0.1 М). Наиболее широкое применение в фармаанализе нашла вольтамперометрия, которая прекрасно показала себя при определении лекарственных веществ как в фармацевтических препаратах, так и в различных биологических матрицах [6–9]. Применение вольтамперометрии в анализе лекарственных средств продемонстрировано в работах [10–13]. Способы определения соединения **1** ранее не описаны. Наличие электроактивной нитрогруппы в соединении **1** позволяет использовать электрохимические методы анализа для создания методик его определения.

Цель данной работы – разработка методики вольтамперометрического определения натриевой соли 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинид моногидрата (соединения **1**).

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Реактивы и образцы.** Натриевая соль 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинид моногидрата (**1**); 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидро-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинид (**2**); 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидро-7-пропагилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинид (**3**); 3-бromo-4-оксо-1,2,4-триазоло[1,2,4]триазин (**4**); 3-этоксикарбонил-4-гидрокси-1,4-дигидро-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин (**5**) синтезированы на кафедре органической и биомолекулярной химии Уральского федерального университета (схема 1) [3], [14].

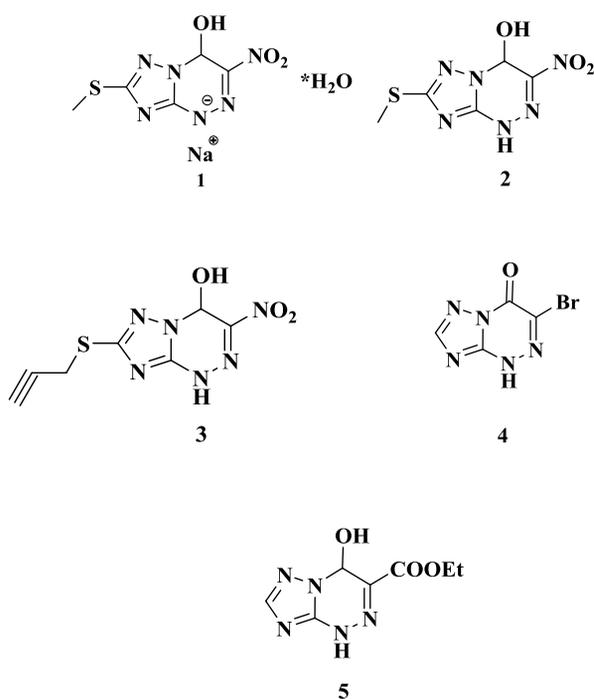


Схема 1. Структурные формулы соединений **1**–**5**.

Для исследования процессов электропревращения веществ использовали водные буферные растворы Бриттона–Роббинсона (ББР), которые готовили согласно рекомендациям [15]. Использовали кислоты и соли марки 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 соединения **1** (чистота 99.8%) с концентрацией 5 г/л готовили растворением навески 0.005 г в 1 мл ББР (рН  $2.0 \pm 0.1$ ) в пробирке Эппендорфа и хранили в темноте при комнатной температуре.

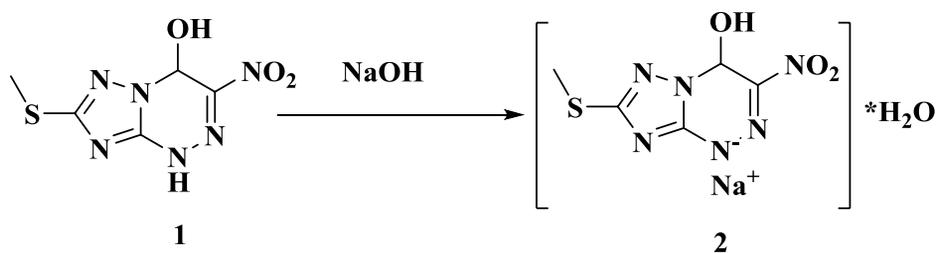


Схема 2. Получение 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с] [1,2,4]триазинид натрия моногидрата.

Получение 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинид натрия моногидрата.

2.3 г 3-нитро-4-гидрокси-7-метилтио-4Н-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазина, полученного в соответствии с методикой [14], растворяли в 10%-ном растворе гидроксида натрия (схема 2). Получившийся раствор упаривали на ротационном испарителе, осадок фильтровали и далее очищали путем перекристаллизации из 80%-ного этанола. Получили осадок чистотой 99.8% ярко-оранжевого цвета, выход 2.25 г (81.5%), который затем сушили на воздухе. Т пл. полученного кристаллогидрата 223–225°C с разложением. Вычислено, %: С – 22.23, Н – 2.61, N – 31.10;  $C_5H_7N_6NaO_4S$  (270.20). Найдено, %: С – 21.94, Н – 2.34,; N – 31.29. В ИК-спектре имеются следующие полосы поглощения,  $\nu/\text{см}^{-1}$ : 750 (С–S), 1290 ( $\text{NO}_2$ ), 1451 ( $\text{NO}_2$ ), 3329 ( $\text{H}_2\text{O}$ ).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ ),  $\delta$  (м.д.): 6.96 (с, 1H), 2.5 (с.,  $\text{CH}_3$ ). Спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО)  $\delta$ , м.д.: 159.89, 155.45, 140.99, 71.80, 13.47.

**Электрохимические приборы.** Для регистрации циклических вольтамперограмм (ЦВА) и вольтамперограмм (ВА) использовали потенциостат / гальваностат  $\mu\text{Autolab Type III}$  (Metrohm, Швейцария). Рабочим электродом служил стеклоуглеродный диск (Metrohm, Швейцария),  $S = 0.07 \text{ см}^2$ . Для полировки поверхности стеклоуглеродного электрода (СУЭ) применяли набор kit 6.2802.010 (Metrohm, Швейцария), включающий оксид алюминия с дисперсностью частиц 0.3 мкм и тканевую подложку. В качестве вспомогательного электрода использовали стержень из стеклоуглерода (Metrohm, Швейцария). Хлоридсеребряный электрод  $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{нас}}$  (Metrohm, Швейцария) служил электродом сравнения.

**Методика эксперимента.** Перед анализом поверхность индикаторного СУЭ полировали с помощью суспензии оксида алюминия. Для удаления следов абразива поверхность СУЭ промывали 0.1 М азотной кислотой и ополаскивали деионизованной водой.

Для удаления растворенного кислорода, волна восстановления которого на СУЭ регистри-

руется в области катодного тока соединения 1, раствор активно (5–6 пузырьков в секунду) продували в течение 10 мин аргоном. Затем уменьшали скорость продувки газом до 1 пузырька в секунду, опускали электроды в раствор, сопло направляли таким образом, чтобы выходящие пузырьки газа не попадали на электроды, выключали мешалку, выжидали 5 с для успокоения раствора и регистрировали вольтамперограмму. После регистрации каждой вольтамперограммы СУЭ выдерживали в течение 3 мин при потенциале 0.0 В.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Электрохимическое поведение соединений 1–5 в водных растворах.** Для установления природы электрохимического отклика регистрировали ЦВА соединений 1–5 (рис. 1), содержащих и не содержащих нитрогруппу, в растворе ББР при pH 2. Соединения 1–3, содержащие в своей структуре нитрогруппу, восстанавливаются необратимо в одну ступень в диапазоне потенциалов от –0.27 до –0.31 В, что сопоставимо с потенциалами восстановления содержащих ни-

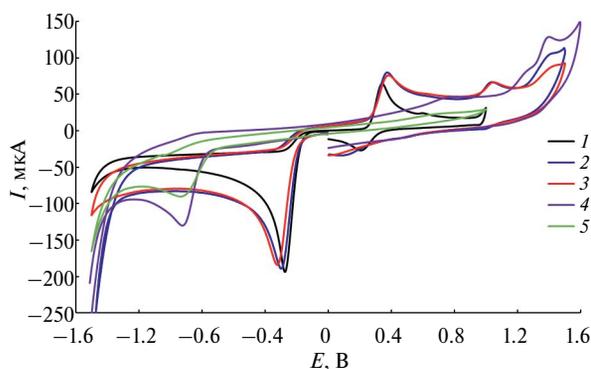


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы, зарегистрированные на стеклоуглеродном электроде при скорости сканирования 0.1 В/с в буферном растворе Бриттона–Робинсона с pH 2.0 после добавления 5 мМ растворов соединений 1–5.

трогруппу гетероциклических нитросоединений [16–21]. На анодных ветвях вольтамперограмм после изменения направления развертки потенциала регистрируются необратимые пики окисления продуктов электровосстановления соединений **1–3** в диапазоне потенциалов от +0.3 до +0.4 В. Близость значений потенциалов окисления указывает на образование близких по структуре продуктов электровосстановления соединений **1–3** [16, 18]. Электропревращения нитросоединений **1–3** являются необратимыми, протекают в одну ступень, и это единственный процесс до потенциала разряда фона. Соединения **4** и **5**, содержащие в своей структуре вместо нитрогруппы бром или этоксикарбонильный фрагмент, восстанавливаются необратимо, но, в отличие от нитросоединений, при более отрицательных потенциалах (–0.9 и –0.99 В соответственно). Таким образом, можно предположить, что редокс превращения исследуемого соединения **1** соответствуют электровосстановлению нитрогруппы.

**Влияние кислотности раствора на электрохимическое восстановление соединения 1.** Влияние рН раствора на электрохимическое восстановление соединения **1** показано на рис. 2. Из рис. 2а следует, что увеличение рН раствора в рассматриваемом диапазоне оказывает несущественное влияние на величину тока. При этом значения потенциалов сдвигаются в катодную область (рис. 2б).

Можно предположить, что с увеличением рН раствора электровосстановление соединения **1** затруднено из-за нехватки протонов. Поскольку величина катодного тока не зависит от рН, а зависимость потенциала пика от рН линейна, вероятно, электровосстановление соединения **1** в области рН 2–11 происходит по одному механизму. Дальнейшие исследования проводили при рН 2.0, так как потенциал тока восстановления максимально сдвинут в анодную область и нет наложения линии разряда фона (рис. 2а, вставка).

**Оптимизация параметров квадратно-волновой (КвВ) развертки потенциала.** Величина анали-

тического сигнала (АС) в режиме КвВ зависит от инструментальных параметров: частоты амплитуды, шага импульса и амплитуды импульса. Зависимость величины тока восстановления соединения **1** от частоты импульса (рис. 3а) при амплитуде импульса 0.05 В и шаге импульса 0.01 В линейна в области от 10 до 50 Гц. После увеличения частоты до 20 Гц величина тока не возрастает. При сравнении базовых линий остаточного тока при 20 и 50 Гц не наблюдается существенного увеличения тока при 50 Гц. В связи с этим для аналитических целей выбрали частоту 20 Гц.

Величина тока восстановления соединения **1** при частоте импульса 20 Гц, шаге развертки 0.01 В и скорости сканирования 0.10 В/с линейно растет при увеличении амплитуды импульса от 0.02 до 0.05 В (рис. 3б). Дальнейшее увеличение амплитуды импульса приводит к уменьшению АС соединения **1**.

Как видно из рис. 3в, величина тока восстановления соединения **1** возрастает в интервале скоростей развертки от 0.01 до 0.15 В/с, после чего рост замедляется. Для аналитических целей выбрали амплитуду импульса 0.05 В, скорость развертки 0.10 В/с, частоту импульса 20 Гц. При этом форма пиков остается симметричной при скорости сканирования 0.10 В/с.

Аналогичным образом подбирали рабочие параметры регистрации вольтамперограмм для линейного (ЛР) и дифференциально-импульсного (ДИП) режимов. Так, при амплитуде модуляции 0.06 В и скорости сканирования 0.01 В/с величина тока соединения **1** в ДИП-режиме имеет максимальное значение. Поскольку изменяемым параметром в ЛР является скорость сканирования, то при ее увеличении в диапазоне от 0.05 до 1 В/с ток возрастает линейно ( $R^2 = 0.98$ ). Однако форма пиков остается симметричной в более узком диапазоне (0.05–0.1 В/с), поэтому для аналитических целей выбрали скорость сканирования 0.1 В/с.

На рис. 4 приведены ВА соединения **1**, зарегистрированные на СУЭ в ЛР-, ДИП- и КвВ-режимах при выбранных рабочих условиях. Сравнение различных вольтамперометрических режимов

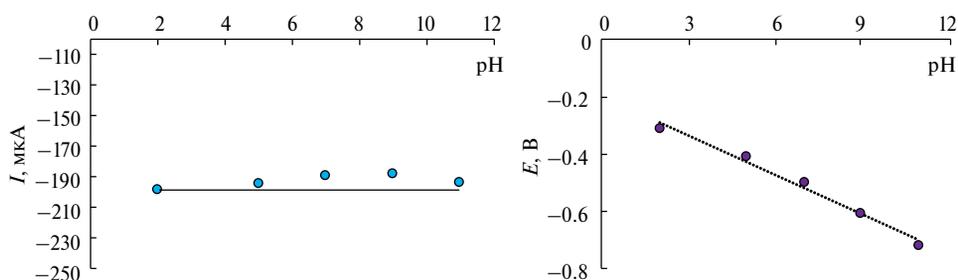
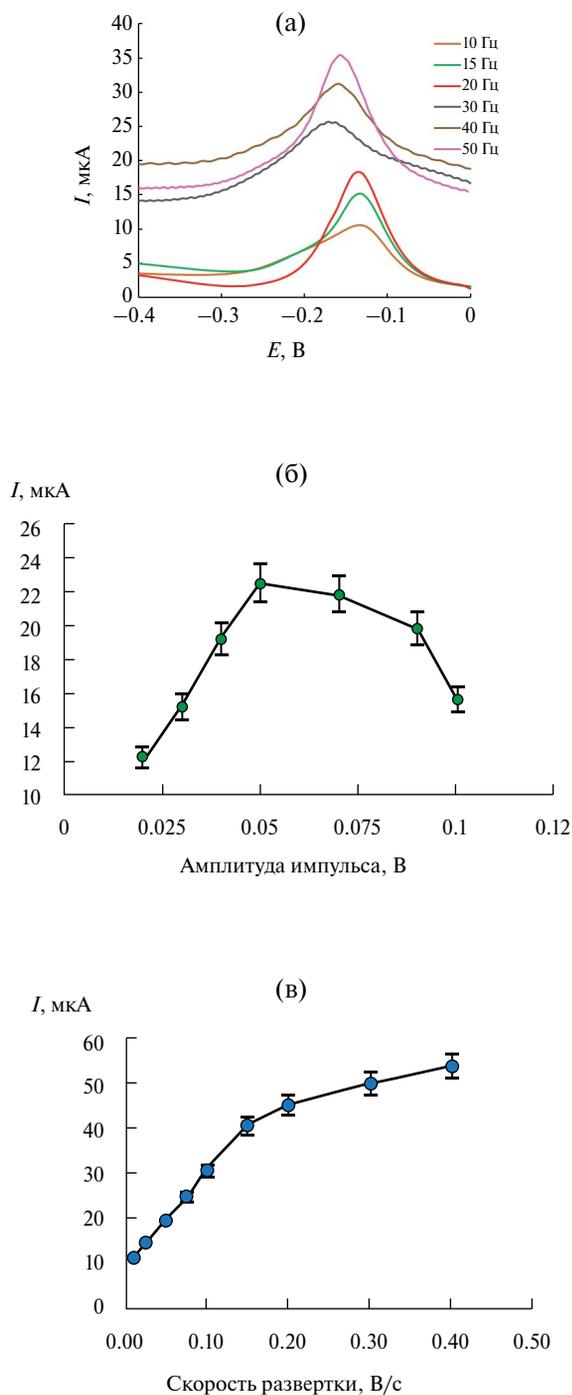


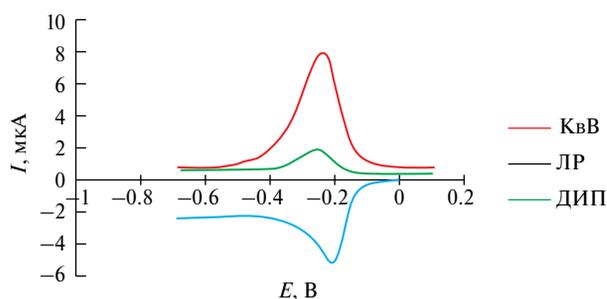
Рис. 2. Зависимости (а) величины тока и (б) значений потенциала восстановления для 5 мМ раствора соединения **1** от рН раствора.



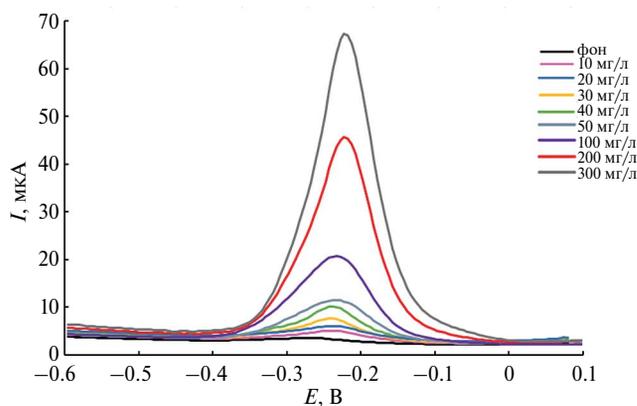
**Рис. 3.** (а) Вольтамперограммы, зарегистрированные при разных частотах для соединения **1** в концентрации 50 мг/л; зависимости аналитического сигнала для соединения **1** в концентрации 50 мг/л (б) от амплитуды импульса, (в) от скорости сканирования потенциала, полученные в буферном растворе Бриттона–Робинсона с рН 2.0 после физического удаления кислорода. Условия регистрации вольтамперограмм в квадратно-волновом режиме: шаг развертки 0.005 В, амплитуда импульса 0.05 В, скорость сканирования 0.10 В/с.

позволяет заключить, что КвВ-режим является предпочтительным для регистрации токов восстановления соединения **1** в ББР при рН 2.0. В случае КвВ-режима получили более симметричный пик по сравнению с ЛР, который может быть измерен с высокой точностью. Величина АС в КвВ-режиме в 4.3 раза выше, чем в режиме ДИП и в 1.6 раза выше, чем в ЛР. Таким образом, дальнейшие исследования проводили в режиме КвВ.

**Характеристики градуировочного графика для определения соединения **1** на стеклоуглеродном электроде.** При оптимальных условиях регистрации АС соединения **1** площадь пика его восстановления линейно увеличивается в интервале концентраций 10–300 мг/л (рис. 5а), на что указывает коэффициент детерминации ( $R^2 = 0.999$ ). Уравнение регрессии ( $n = 5$ ,  $P = 0.95$ )  $S = (0.0213 \pm 0.001)c \text{ (мг/л)} + (0.0148 \pm 0.013)$ .



**Рис. 4.** Катодные вольтамперограммы, зарегистрированные в различных режимах на стеклоуглеродном электроде в буферном растворе Бриттона–Робинсона с рН 2.0 с добавлением соединения **1** в концентрации 50 мг/л: ЛР:  $v = 0.1$  В/с; ДИП:  $v = 0.01$  В/с, амплитуда 0.06 В; КвВ:  $v = 0.1$  В/с, амплитуда импульса 0.07 В, частота 20 Гц.



**Рис. 5.** Квадратно-волновые вольтамперограммы 0, 10, 20, 30, 50, 100, 200, 300 мг/л соединения **1** в буферном растворе Бриттона–Робинсона с рН 2.0, зарегистрированные на стеклоуглеродном электроде при скорости развертки потенциала  $v = 0.1$  В/с, амплитуде импульса 50 мВ и частоте 20 Гц.

**Оценка правильности разработанной методики определения соединения 1 в стандартном образце.** Показатель правильности рассчитывали для уровней концентраций 50, 100, 200 мг/л по методу введено–найдено. Каждое определение повторяли три раза (табл. 1). Показатель правильности ( $R$ , %) для различных уровней концентраций близок к 100% со средним значением  $100.8 \pm 2.9\%$ . Доверительный интервал среднего для  $R$  включает значение 100 %. Значение стандартного отклонения составило 3.89, а относительного стандартного отклонения – 3.8%.

Пределы обнаружения и определения рассчитывали из градуировочной зависимости в диапазонах концентрации соединения 1 от 10 до 50 мг/л. Полученные данные представлены в табл. 2.

\*\*\*

Разработан способ определения соединения из ряда нитроазолоазинов, являющегося потенциальным противовирусным лекарственным средством в отношении вируса Коксаки В3. Результаты исследования электропревращений 3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидро-7-Х-1,2,4-триазоло[5,1-с][1.2.4]триазинов показали, что соединения подвергаются на СУЭ в водных растворах необратимому одноволновому восстановлению в диапазоне потенциалов от  $-0.27$  до  $-0.31$  В. Сравнение различных вариантов вольтамперометрии (линейной, дифференциально-импульсной и квадратно-волновой) позволило

выбрать оптимальный режим регистрации вольтамперограмм – квадратно-волновой со следующими параметрами: частота импульса 20 Гц, скорость развертки 0.1 В/с, амплитуда импульса 0.05 В, шаг импульса 0.004 В. Область линейности градуировочного графика в растворе ББР ( $pH 2.0 \pm 0.1$ ) с использованием разработанного метода составляет 10–300 мг/л соединения 1:  $S = (0.0213 \pm 0.001)c$  (мг/л) + +  $(0.0148 \pm 0.013)$ , коэффициент линейной регрессии 0.999. Предел обнаружения, рассчитанный по градуировочной кривой в диапазоне концентрации от 10 до 50 мг/л, составляет 1.27 мг/л, а предел определения – 4.11 мг/л. Разработанная методика, вероятно, будет интегрирована в один из финальных этапов создания лекарственного средства против вируса Коксаки В3, что поможет сократить время выхода фармпродукции на рынок.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Программы развития Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина в соответствии с программой стратегического академического лидерства “Приоритет-2030”.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной статьи заявляют, что у них нет конфликта интересов.

**Таблица 1.** Результаты определения соединения 1 методом введено–найдено.

Введено, мг/л	S	Найдено, мг/л	R, %
50	1.13	52.4	104.7
	1.04	48.1	96.3
	1.01	46.3	92.5
100	2.21	103.1	103.1
	2.18	101.7	101.7
	2.17	101.2	101.2
200	4.43	207.3	103.6
	4.39	205.4	102.7
	4.35	203.5	101.8

**Таблица 2.** Характеристики градуировочного графика соединения 1

Характеристика	Значение
Коэффициент корреляции	0.995
Коэффициент чувствительности, мкКл/мг/л	0.022
Стандартное отклонение аналитического сигнала	0.0003
Предел обнаружения, мг/л	1.27
Предел определения, мг/л	4.11

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Yajima T., Knowlton K.U.* Viral myocarditis: From the perspective of the virus // *Circulation*. 2009. Т. 119. № 19. С. 2615.
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. Т. 57. № 5. С. 985. (*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.* 2008. V. 57. P. 985.)
3. *Русинов В.Л., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н.* Биологически активные азоло-1,2,4-триазины и азолопиримидины // *Изв. АН. Сер. хим.* 2018. № 4. С. 573. (*Rusinov V.L., Charushin V.N., Chupakhin O.N.* Biologically active azolo-1, 2, 4-triazines and azolopyrimidines // *Russ. Chem. Bull.* 2018. V. 67. P. 573.)
4. *Токин И.И., Цветков В.В., Голобоков Г.С.* Сравнительная клинико-экономическая оценка двух альтернативных схем противовирусной терапии больных гриппом // *Журн. 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.)
5. *Дрокин Р.А.* 4-Гидрокси-1,4-дигидроазоло[5,1-с][1,2,4]триазины: синтез и биологическая активность. Дис. ... канд. хим. наук. Екатеринбург: Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, 2022. 145 с.
6. *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.
7. *Mokwebo K.V., Douman S.F., Uhuo O.V., Januarie K.C., Oranzie M., Iwuoha E.I.* Electroanalytical sensors for antiretroviral drugs determination in pharmaceutical and biological samples: A review // *J. Electroanal. Chem.* 2022. V. 920. Article 116621.
8. *Clares P., Pérez-Ràfols C., Serrano N., Díaz-Cruz J.M.* Voltammetric determination of active pharmaceutical ingredients using screen-printed electrodes // *Chemosensors.* 2022. V. 10. № 3. P. 95.
9. *Bitew Z., Amare M.* Recent reports on electrochemical determination of selected antibiotics in pharmaceutical formulations: A mini review // *Electrochem. Commun.* 2020. V. 121. Article 106863.
10. *Зильберг Р.А., Майстренко В.Н., Терес Ю.Б., Ваккулин И.В., Булышева Е.О., Селуянова А.А.* Вольтамперометрический сенсор на основе алюмофосфатного цеолита и композита бетулиновой кислоты с полиэлектролитным комплексом хитозана для распознавания и определения энантиомеров напроксена // *Журн. аналит. химии.* 2023. Т. 78. № 7. С. 648. (*Zilberg R.A., Maistrenko V.N., Teres Y.B., Vakulin I.V., Bulysheva E.O., Seluyanova A.A.* A voltammetric sensor based on aluminophosphate zeolite and a composite of betulinic acid with a chitosan polyelectrolyte complex for the identification and determination of naproxen enantiomers // *J. Anal. Chem.* 2023. V. 78. № 7. P. 933.)
11. *Яркаева Ю.А., Исламуратова Е.Н., Загитова Л.Р., Гуськов В.Ю., Зильберг Р.А., Майстренко В.Н.* Сенсор для распознавания и определения энантиомеров триптофана на основе модифицированного энантиоморфными кристаллами бромтрифенилметана угольно-пастового электрода // *Журн. аналит. химии.* 2021. Т. 76. № 11. С. 1038. (*Yarkaeva Y.A., Islamuratova E.N., Zagitova L.R., Gus'kov V.Y., Zilberg R.A., Maistrenko V.N.* A Sensor for the recognition and determination of tryptophan enantiomers based on carbon-paste electrode modified by enantiomorphous crystals of bromotriphenylmethane // *J. Anal. Chem.* 2021. V. 76. P. 1345.)
12. *Зильберг Р.А., Майстренко В.Н., Кабилова Л.Р., Гуськов В.Ю., Хамитов Э.М., Дубровский Д.И.* Хиральный вольтамперометрический сенсор на основе модифицированного циануровой кислотой пастового электрода для распознавания и определения энантиомеров тирозина // *Журн. аналит. химии.* 2020. Т. 75. № 1. С. 80. (*Zil'berg R.A., Maistrenko V.N., Kabirova L.R., Gus'kov V.Y., Khamitov E.M., Dubrovskii D.I.* A chiral voltammetric sensor based on a paste electrode modified by cyanuric acid for the recognition and determination of tyrosine enantiomers // *J Anal Chem.* 2020. V. 75. P. 101.)
13. *Зильберг Р.А., Яркаева Ю.А., Максютова Э.И., Сидельников А.В., Майстренко В.Н.* Вольтамперометрическая идентификация инсулина и его аналогов с использованием модифицированных полиарилефталатами стеклоглеродных электродов // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. № 4. С. 348. (*Zil'berg R.A., Yarkaeva Y.A., Maksyutova E.I., Sidel'nikov A.V., Maistrenko, V.N.* Voltammetric identification of insulin and its analogues using glassy carbon electrodes modified with polyaryleneftalides // *J Anal Chem.* 2017. V. 72. P. 402.)
14. *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.* 4-гидрокси-3-нитро-1,4-дигидро-триазоло [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., V.L. Rusinov* 4-Hydroxy-3-nitro-1, 4-dihydrotriazolo [5, 1-c][1, 2, 4] triazines: Synthesis, antiviral activity, and electrochemical char-

- acteristics // Russ. Chem. Bull. 2022. V. 71. № 11. P. 2460.)
15. Britton H.T. S., Robinson R.A. CXCVII I. – Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal // J. Chem. Soc. (Resumed). 1931. P. 1456.
  16. Ивойлова А.В., Михальченко Л.В., Цмокалюк А.Н., Козицина А.Н., Иванова А.В., Русинов В.Л. Окислительно-восстановительные превращения нового противовирусного препарата Триазавирин®: электрохимическое исследование и ЭПР-спектроскопия // Изв. АН. Сер. хим. 2021. № 6. С. 1099. (Ivoilova A.V. Mikhal'chenko L.V., Tsmokalyuk A.N., Kozitsina A.N., Ivanova A.V., Rusinov V.L. Redox conversions of new antiviral drug triazavirin®: Electrochemical study and ESR spectroscopy // Russ. Chem. Bull. 2021. V. 70. P. 1099.)
  17. Ivoilova A., Mikhalchenko L.V., Tsmokalyuk A., Leonova M., Lalov A., Mozharovskaia P., et al. 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.
  18. Wardman P. Application of pulse radiolysis methods to study the reactions and structure of biomolecules // Rep. Prog. Phys. 1978. V. 41. № 2. P. 259.
  19. Lund H., Baizer M. M Organic Electrochemistry: An Introduction and a Guide New York: Marcel Dekker, 1983. P. 1393.
  20. Zuman P. Half a century of research using polarography // Microchem. J. 1997. V. 57. № 1. P. 4.
  21. Русаков А.И., Менкович А.С., Гультай В.П., Орлов В.Ю. Структура и реакционная способность органических анион-радикалов. М.: Мир, 2005. С. 294.

---



---

ORIGINAL ARTICLES

---



---

**VOLTAMPER-METRICAL DEFINITION OF POTENTIAL PROTECTIVE VIRUS MEDICINE SODIUM SALT OF 3-NITRO-4-HYDROXY-7-METHYLTHIO-4H-[1,2,4]TRIAZOLO[5,1-*c*][1,2,4]TRIAZINIDE MONOHYDRATE**

P.N. Mozharovskaya<sup>a, \*</sup>, A.V. Ivoylova<sup>a</sup>, N.A. Malakhova<sup>a</sup>, R.A. Drokin<sup>a</sup>, I.A. Balin<sup>a</sup>,  
A.N. Kozitsina<sup>a</sup>, A.V. Ivanova<sup>a</sup>, V.L. Rusinov<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup>Ural Federal University named after the First President of Russia B. N. Yeltsin. N. Yeltsin, 620002 Ekaterinburg, Russia

<sup>b</sup>I. Y. Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,  
620137 Ekaterinburg, Russia

\*e-mail: pnmozharovskaia@urfu.ru

Received October 27, 2023. Revised November 21, 2023. Accepted November 22, 2023.

**Abstract.** The sodium salt of 3-nitro-4-hydroxy-7-methylthio-4H-[1,2,4]triazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazinide monohydrate (compound **1**) is one of the promising compounds that showed potential antiviral activity against Coxsackie B3 virus. It was established by cyclic voltammetry that the electrochemical activity of compound **1** on a glass-carbon electrode in Britton-Robinson buffer solution (**BBR**) is due to the electroreduction of the nitro group. A method for the determination of compound **1** by direct cathodic square-wave voltammetry was developed. The linearity area of the graduation plot using the developed method in BBR solution (pH 2.0 ± 0.1) is 10–300 mg/L ( $R^2 = 0.999$ ) with detection and determination limits of 1.27 and 4.11 mg/L, respectively.

**Keywords:** quantitative substance analysis, square-wave voltammetry, azoloazines, nitro group, glass-carbon electrode, antiviral agent, Coxsackie B3.