

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б.Н. Ельцина»

Химико-технологический институт
Кафедра Аналитической химии

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ В ГЭК

Зав. кафедрой Коз А. Н. Козицина

«06» июня 2024 г.

**СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИСЛОТНО-ОСНОВНЫХ СВОЙСТВ ИЗ
РЯДА АЗОЛОАЗИНОВ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИМ И
ОПТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ**

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Пояснительная записка

04.04.01 М.72.19.9 ПЗ

Руководитель, ст.препод, к.х.н.

Ивойлова А. В.

Нормоконтролер, доцент, к.х.н.

Малахова Н. А.

Студент гр. ХМ-220028

Сычева А. Е.

Екатеринбург
2024

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Институт Химико-технологический
Кафедра аналитической химии
Направление (специальность) 04.04.01 Химия
Образовательная программа «Живые системы. Перспективные химико-фармацевтические и биотехнологии: исследования и разработки»


Зав. кафедрой Козицина А.Н.
«22» апреля 2024 г.

ЗАДАНИЕ
на выполнение магистерской диссертации

студента Сычевой Александры Евгеньевны группы ХМ-220028
(фамилия, имя, отчество)

1. Тема ВКР Способ определения кислотно-основных свойств соединений из ряда азолазинов потенциометрическим и оптическими методами

Утверждена распоряжением по институту от «11» января 2024 г. №33-09-05/03

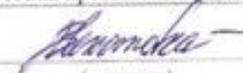
2. Руководитель Ивойлова Александра Всеволодовна, ст. преподаватель, к.х.н.
(Ф.И.О., должность, ученое звание, ученая степень)

3. Исходные данные к работе литературные данные и результаты собственных исследований

4. Перечень демонстрационных материалов результаты исследований (презентация)

5. Календарный план

№ п/п	Наименование этапов выполнения работы	Срок выполнения этапов работы	Отметка о выполнении
1.	Проведение литературного обзора по теме исследования. Получение экспериментальных данных и их статистическая обработка	до 05.05.2024	Выполнено
2.	Оформление пояснительной записки	до 26.05.2024	Выполнено
3.	Подготовка презентации доклада	до 02.06.2024	Выполнено

Руководитель: 
(подпись)

Ивойлова А.В.
Ф.И.О.

Задание принял к исполнению 23.04.2024 г.
дата


(подпись)

6. Выпускная квалификационная работа закончена «02» июня 2024 г.

Считаю возможным допустить Сычеву Александру Евгеньевну к защите выпускной квалификационной работы в Государственной экзаменационной комиссии

Руководитель: 
(подпись)

Ивойлова А.В.
Ф.И.О.

7. Допустить Сычеву Александру Евгеньевну к защите магистерской диссертации в Государственной экзаменационной комиссии (протокол заседания кафедры № 7 от «06» июня 2024 г.).

Зав. кафедрой 
(подпись)

Козицина А.Н.
Ф.И.О.

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа магистра: Способ определения кислотно-основных свойств соединений из ряда азолазинов потенциометрическим и оптическими методами

Пояснительная записка 70 с., 13 рис., 9 табл., 37 библиографических наименований.

Ключевые слова: ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ, СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ, НИТРОТРИАЗОЛО[5,1-с][1,2,4]ТРИАЗИНЫ, АПРОТОННАЯ СРЕДА, СМЕШАННАЯ СРЕДА, КОНСТАНТА ДИССОЦИАЦИИ

Объектами исследования являются соединения из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов.

Цель работы – разработка способа определения рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов в апротонных и смешанных средах методами потенциометрического титрования и спектрофотометрии.

В настоящее время появляются новые эффективные противовирусные препараты из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов, которые проявляют активность в отношении вирусов на любой стадии протекания заболевания. Однако причины столь высокой биологической активности и широкого спектра действия остаются до конца неизученными. Структура нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов предполагает возможность окислительно-восстановительных превращений, включая образование промежуточных радикальных продуктов, с участием протонов. Предполагается, что в условиях недостатка протонов донором может выступать сама молекула. На способность к самопротонированию может указывать константа кислотности вещества. В настоящее время не существует универсального метода определения рКа соединений этого ряда в апротонной среде и смешанной средах.

Было проведено определение pK_a соединений из ряда нитротриазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов в апротонных и смешанных средах двумя методами: потенциометрическим титрованием и спектрофотометрией.

Предложены алгоритмы для определения pK_a соединений из ряда нитротриазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов методами потенциометрического титрования и спектрофотометрического анализа в апротонных и смешанных средах

REPORT

The final qualification work of the master: A method for determining the acid-base properties of compounds from a number of azoloazines by potentiometric and optical methods

Explanatory note 70 p., 13 fig., 9 tables, 37 bibliographic titles.

Keywords: POTENTIOMERIC TITRATION, SPECTROPHOTOMETRY, NITROTRIAZOLO[5,1-*c*][1,2,4]TRIAZINES, APROTIC MEDIUM, MIXED MEDIUM, DISSOCIATION CONSTANT

The objects of the study are compounds from the series of nitrotriazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines.

The aim of the work is to develop a method for determining the pK_a of compounds from a number of nitrotriazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines in aprotic and mixed media by potentiometric titration and spectrophotometry.

Currently, new effective antiviral drugs are emerging from a number of nitrotriazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines that are active against viruses at any stage of the disease. However, the reasons for such high biological activity and a wide spectrum of action remain unexplored to the end. The structure of nitrotriazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines suggests the possibility of redox transformations, including the formation of intermediate radical products, involving protons. It is assumed that in conditions of a lack of protons, the molecule itself can act as a donor. The ability to self-protonate may be indicated by the constant acidity of the substance. Currently, there is no universal method for determining the pK_a of compounds of this series in an aprotic medium and mixed media.

The pK_a of compounds from a number of nitrotriazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazines in aprotic and mixed media was determined by two methods: potentiometric titration and spectrophotometry.

Algorithms are proposed for determining the pK_a of compounds from a number of nitrotriazolo[5,1-c][1,2,4]triazines by potentiometric titration and spectrophotometric analysis in aprotic and mixed media

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	8
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	10
1.1 Методы определения рКа в апротонных и смешанных средах	10
1.1.1 Определение рКа методом потенциометрического титрования в апротонных и смешанных средах.....	11
1.1.2 Спектрофотометрическое определение рКа в смешанной среде.....	23
ГЛАВА 2. ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	28
2.1 Оборудование и средства измерения.....	28
2.2 Реактивы и объекты исследования	29
ГЛАВА 3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	33
3.1.1 Определение рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1- с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5- <i>a</i>]пиримидинов в апротонной среде	33
3.1.2 Определение рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1- с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5- <i>a</i>]пиримидинов в смешанной среде	43
3.2 Спектрофотометрическое определение рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1- <i>c</i>][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5- <i>a</i>]пиримидинов в смешанной среде	48
3.3 Разработка алгоритмов определения рКа нитротриазоло[5,1- с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5- <i>a</i>]пиримидинов методом потенциометрического титрования	53
3.4.1 Алгоритм определения рКа нитротриазоло[5,1- <i>c</i>][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5- <i>a</i>]пиримидинов в апротонной среде.....	53
3.4.1 Алгоритм определения рКа нитротриазоло[5,1- <i>c</i>][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5- <i>a</i>]пиримидинов в смешанной среде	56
3.4 Разработка алгоритма определения рКа нитротриазоло[5,1- с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5- <i>a</i>]пиримидинов спектрофотометрическим методом анализа в смешанной среде	60
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	65
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	66

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность поиска и создания более эффективных и оригинальных лекарственных средств обусловлена не только постоянной мутацией уже известных вирусов, но и возникновением новых, а также их резистентностью к уже имеющимся на данный момент времени препаратам [1]. Соединения из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов являются перспективными скаффолдами для формирования на их основе веществ с полезной биологической активностью. В частности, применяемый в медицинской практике для лечения различных вирусных заболеваний – Триазавирин® – является главным представителем этого ряда [2-4]. Несмотря на успешное внедрение веществ класса триазолотриазинов в терапевтическую деятельность, остаются до конца не изученными причины столь высокой биологической эффективности и широкого спектра действия.

Некоторыми авторами предполагается, что одной из причин, обуславливающей биологические свойства соединений данного ряда, может являться возникновение продуктов радикальной природы, образующихся в результате восстановления нитрогруппы [5-8]. Различия в образовании того или иного вида интермедиата, его количества и, вероятно, проявления большего биологической активности, может быть связано с непосредственным участием протонов. Также было выдвинуто предположение, что в средах, где наблюдается их недостаток, донором может выступать сама молекула [8,9]. Данная особенность может быть объяснена кислотно-основным равновесием структуры соединения в зависимости от условий среды [8]. На способность вещества выступать в качестве «поставщика» протонов и, как следствие, к протеканию реакции самопротонирования, может указывать рКа этого соединения.

Поскольку транспорт лекарственных средств в организме пациента происходит в основном в смешанных (внутриклеточная среда, кровь, лимфа) и неводных средах (липидные мембраны клеток) [10], то является полезным рассмотрение путей превращения вещества и кислотно-основных свойств молекулы в них. В настоящее время нет единой методики определения рКа соединений для нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов в апротонных и смешанных средах. Кроме того, в научной литературе недостаточно информации об определении рКа для гетероциклических и ароматических солей в этих условиях.

Потенциометрическое титрование и спектрофотометрия являются наиболее эффективными методами для определения рКа. Оба метода обладают высокой чувствительностью и точностью, что позволяет определять рКа с минимальными погрешностями.

Целью работы является разработка способа определения рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов в апротонных и смешанных средах методами потенциометрического титрования и спектрофотометрии.

Для достижения поставленной цели необходимо решить ряд задач:

1. Анализ литературных данных по исследованию кислотно-основных свойств органических молекул в различных средах методами потенциометрического титрования и спектрофотометрии.

2. Выбор рабочих условий для определения рКа соединений из класса нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов методом потенциометрического титрования и спектрофотометрического анализа в апротонных и смешанных средах.

3. Построение алгоритма и разработка методики определения рКа соединений, учитывая их структурные особенности.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Методы определения рКа в апротонных и смешанных средах

Прежде, чем более подробно рассматривать, методы, позволяющие определять рКа в апротонных растворителях, следует отметить, что определяемые в данной работе органические соли, по теории Усановича, могут выступать как кислоты или основания. Согласно [11], данная теория позволяет сделать вывод, что окислительно-восстановительные процессы можно рассматривать как кислотно-основные реакции. Например, щелочной металл натрий («основание») отдает электрон хлору («кислоте») так, что образуется Na^+ -катион-кислота и Cl^- -анион-основание, а их соединение приводит к образованию соли. По теории Усановича, кислоты — это вещества, способные отдавать либо ион водорода, либо другой катион или присоединять какой-либо анион. В более широком смысле кислоты способны отдавать электроположительные частицы и присоединять электроотрицательные. Основания — это соединения, способные отдавать электроны или анионы или присоединять протон или другой катион [11].

Разобрав данные допущения, был выделен ряд методов, позволяющих определять рКа веществ:

Потенциометрический метод – основан на измерении электродвижущих сил (ЭДС) обратимых гальванических элементов в отсутствии тока. Гальванический элемент включает в себя два электрода - индикаторный и электрод сравнения, которые могут быть погружены в один и тот же раствор или в два различных по составу раствора, имеющих между собой жидкостной контакт [12].

Метод потенциометрического титрования — основан на измерении потенциала электрода до и после добавления титранта и расчёте рКа по изменению потенциала [13].

Кондуктометрический метод — основан на определении проводимости электрического тока водными растворами электролитов. Электрическая проводимость соответствует закону Ома, который гласит, что сила тока, проходящего через проводник, прямо пропорциональна разности потенциалов, приложенных к электродам, и обратно пропорциональна сопротивлению, оказываемому проводником [14].

Спектрофотометрический метод — это количественное измерение взаимодействия ультрафиолетового, видимого и инфракрасного излучения. Характер этого взаимодействия зависит от физических свойств вещества [15].

Метод спектрофотометрического титрования — основан на измерении оптической плотности раствора до и после добавления титранта и расчета рКа по изменению оптической плотности [16].

Для определения рКа веществ ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов были выбраны методы потенциометрического титрования и спектрофотометрии, так как оба метода обладают высокой чувствительностью и точностью, что позволяет определить рКа с минимальными погрешностями. Помимо этого, они отличаются экспрессностью и дешевизной.

1.1.1 Определение рКа методом потенциометрического титрования в апротонных и смешанных средах

Потенциометрическое титрование в апротонных и смешанных средах соединений представляют наибольший интерес. Это связано с тем, что многие соединения, которые известны как нейтральные вещества в протондонорных растворителях, в неводных средах проявляют кислые или основные свойства

[17]. Например, в водном растворе H_3PO_4 диссоциирует по типу кислоты, H_2PO_4^- проявляет преимущественно кислотные свойства, HPO_4^{2-} реагирует как основание, а в ряде неводных растворителей не только HPO_4^{2-} , но и H_2PO_4^- имеет преимущественно основной характер [18]. Благодаря этому оказывается возможным определять методами кислотно-основного потенциометрического титрования подавляющее большинство соединений, которые не титруются в водных растворах. [17]

Однако данный метод имеет ряд проблем, связанных с выбором титранта, растворителя, индикаторного электрода и скоростью установления равновесия между реагирующими компонентами и индикаторным электродом. Важными требованиями являются стехиометрическое соотношение между титруемым веществом и титрантом, а также доступность индикаторного электрода. Помимо этого, могут возникнуть трудности и при определении точки эквивалентности, в следствии слабо выраженного скачка на графике зависимости $E = f(V)$. Для преодоления указанных проблемы были применены описанные ниже следующие подходы.

1.1.1.1 Выбор апротонного и смешанного растворителя

В работах [19-24] показан выбор апротонного растворителя, а также изучена кислотная диссоциация молекул методом потенциометрического титрования. Кроме этого, исследовано кислотно-основные равновесия в системах с участием замещенных нитропиридинов и сопряженных катионных кислот в полярных неводных растворителях.

Схему фундаментальных равновесий растворов замещенных органических оснований в таких растворителях, как ацетонитрил, пропиленкарбонат, метанол, диметилсульфоксид (ДМСО), нитрометан, ацетон, можно представить следующим образом согласно статье [21]:



где В представляет собой молекулу основания, а BH^+ представляет собой катион протонированного основания. Уравнение (2) показывает, что катионные реакции гомоконъюгации создают комплексные катионы $[\text{BHB}]^+$.

Потенциометрические измерения, проведенные в неводных растворителях для замещенных нитропиридина и его производных, позволяют сделать следующие выводы: константы кислотности катионных кислот для метил- и этилзамещенного нитропиридина могут быть определены с высокой точностью для всех указанных выше растворителей. В случае пиридинов, содержащих объемные заместители, эти константы имеют большие стандартные отклонения, что вероятно связано с наличием в 2 положении пиридинового кольца групп разной природы, взаимодействие которых может быть затрудненным. Стерический эффект, вероятно, достаточно силен, чтобы затруднить определение значений кислотно-основных констант с высокой точностью.

Также стоит отметить, что при рассмотрении исследованных неводных растворителей наиболее сильными кислотами в полярном амфипротонном метаноле являются катионы, образованные пиридином и его производными. Значения pK_a в этом растворителе колеблются от 1,02 до 10,37, лишь немного превышая соответствующие значения в воде (они отличаются не более чем на один порядок, за исключением иона 2-гидроксипиридиния, где разница составляет примерно 1,5 порядка). Эта небольшая разница обусловлена сравнимыми сольватационными способностями метанола и воды. Наибольшие различия в отношении значений pK_a катионов пиридиния в воде и апротонном растворителе наблюдаются в ацетонитриле (на 8–9 порядков), затем в нитрометане (на 6–7 порядков) и наименьшие в ацетоне (на 2–3 порядка).

Последние попадают в диапазон 2,69–12,69. Опять же, сольватирующая способность по отношению к катионным кислотам в этих трех протофобных растворителях увеличивается в порядке: ацетон < нитрометан \cong ацетонитрил [19-24].

Сравнение констант кислотной диссоциации, определенных во всех исследованных средах, также показало, что сила катионных кислот возрастает при переходе от ацетонитрила через нитрометан, пропиленкарбонат, ацетон и метанол к диметилсульфоксиду [22]. Следовательно, увеличение основности растворителя приводит к увеличению силы катионных кислот. Нитрометанол является исключением из этого правила. Кроме того, значения констант кислотности в неводных средах показали, что во всех исследованиях растворителей они изменяются в зависимости от влияния заместителей. Электроноакцепторные заместители, например, $-\text{NO}_2$ и др., вызывают понижение основности пиридинового азота [22]. Более того, наличие двух электроноакцепторных заместителей по соседству вызывает резкое снижение основности по отношению к незамещенному соединению.

Однако стоит отметить, что на величину pK_a кроме основности растворителя и сольватационной способности влияют и другие факторы, например полярность растворителя, электростатические взаимодействия, константа автодиссоциации растворителя и специфические взаимодействия, включая образование водородных связей. Последний фактор может иметь решающее значение для нитрометана, молекулы которого могут образовывать амфипротную аци - форму. По этой причине нитрометан можно рассматривать как «частично» протонный растворитель [22].

Исходя из всего вышеперечисленного, в данной работе в качестве титранта был выбран ацетонитрил из-за его слабой кислотности и щелочности, благодаря чему он способен различать силу кислот и оснований. Высокая диэлектрическая проницаемость $\epsilon = 35,95$ мВ ацетонитрила способствует

повышенной растворимости как ионных, так и полярных органических соединений, а также практически полной диссоциации большинства солей. Высокие значения степени диссоциации солей с органическими катионами и кислот в разбавленных растворах ацетонитрила позволяют использовать потенциометрические методы исследования ионных равновесий в этом растворителе. Также следует отметить, что константа кислотности для органических соединений ряда азолоазинов с высокой точностью определяется в ацетонитриле, а определенные в сильноосновном апротонном ДМСО константы кислотности имеют значимые стандартные отклонения, из-за усиленной диссоциации кислот [19].

В ОФС.1.2.3.0014.15 «Кислотно-основное титрование в неводных средах» [25] рассматривается метод кислотно-основного титрования в неводных растворителях, применяемый для количественного определения веществ, титрование которых в воде затруднено или невозможно из-за их слабовыраженных в этой среде кислотно-основных свойств, малой растворимости, наличия в объектах анализа компонентов или примесей, полностью блокирующих возможность или нарушающих селективность титрования в водной среде.

Титрование в неводных средах, согласно [25] может быть проведено как с индикаторами, так и потенциометрически с использованием в качестве индикаторного электрода – стеклянный или любой другой, обратимого по отношению к протону. В качестве электрода сравнения обычно используются хлоридсеребряный или каломельный электрод. При проведении потенциометрического титрования целесообразно использовать электролитический мост, заполненный насыщенным раствором калия хлорида или лития перхлората в метаноле. Это предотвращает попадание воды в титруемый раствор и возрастание электрического сопротивления моста в процессе титрования. Применение перхлората лития в качестве контактного

электролита необходимо при титровании оснований в протогенных средах в присутствии ацетата ртути (II) или уксусного ангидрида, когда недопустимо попадание даже следов хлорида калия в титруемый раствор.

Согласно статье [22], рабочие условия титрования для слабых кислот достигаются в основных растворителях, таких как пиридин, диметилформамид (ДМФА); а для слабых оснований - в кислых растворителях, таких как уксусная кислота, пропионовая кислота и уксусный ангидрид и иногда в нитрометане. Соли же некоторых органических и минеральных кислот могут быть оттитрованы как основания в кислых растворителях и, реже, как кислоты в основных растворителях.

Для отдельного титрования смесей кислот или оснований используют дифференцирующие растворители, то есть растворители, не обладающие выраженными кислотно-основными свойствами, такие как кетоны, нитрилы, нитрометан. В ряде случаев для титрования применяют смеси неводных растворителей, один из которых является апротонным (бензол, хлороформ и др.), позволяющий уменьшить ионное произведение среды, что иногда способствует улучшению условий титрования. При предварительном выборе неводного растворителя использовались данные из таблицы 1, представленной в фармакопейной статье [25].

Таблица 1 – Растворители, индикаторы и титранты, рекомендуемые при кислотном титровании в неводных средах

Растворители	Индикаторы	Титранты
Кислые Уксусная, пропионовая, муравьиная кислоты, уксусный ангидрид и их смеси с другими растворителями	Кристаллический фиолетовый, судан III, тропеолин OO, метиловый фиолетовый, нейтральный красный, малахитовый зеленый, диметиловый желтый	Раствор хлорной кислоты в уксусной кислоте или нитрометане

Продолжение таблицы 1

<p>Основные</p> <p>Диметилформамид, пиридин, этилендиамин</p>	<p>Тимоловый синий, бромтимоловый синий, нафтолбензеин, нитроанилин</p>	<p>Растворы гидроксидов натрия (NaOH) и калия (KOH), натрия метилата, лития метилата, гидроксиды тетраэтил- и тетрабутиламмония в спирте метиловом или в его смеси с бензолом или толуолом</p>
<p>Дифференцирующие</p> <p>Ацетон, диоксан, нитрометан, метилэтилкетон, метанол, 2-пропанол, 2-метил-2-пропанол, диметилсульфоксид</p>	<p>Метиловый оранжевый, тимоловый синий, нейтральный красный, метиловый красный, бромтимоловый синий</p>	<p>Растворы хлористоводородной кислоты в спирте метиловом или в гликолевых смесях; растворы хлорной кислоты в нитрометане, метаноле или в гликолевых смесях; растворы, применяемые при титровании в основных растворителях</p>

Фенолы, барбитураты, сульфамиды, аминокислоты, соли и другие соединения, способные к количественному депротонированию в основных растворителях. А как основания можно титровать: амины, азотсодержащие гетероциклические соединения, амиды, соли и другие соединения, способные к протонированию в кислых растворителях [25].

Так как нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазины являются азотсодержащими гетероциклическими соединениями, то для данного ряда веществ был выбран основной неводный растворитель диметилформамид. При проведении титрования в основном неводном растворителе необходимо учитывать влияние растворенного кислорода и углекислого газа на полноту протекания реакции. Так титрование в этилендиаминах и пиридине лучше проводить в атмосфере инертного газа (азота или аргона) [25]. Поскольку диметилформамид также

является основным растворителем на начальном этапе исследования в систему также была добавлен поток аргона для продувки.

В качестве смешанного растворителя была выбрана смесь этанола и воды. Этанол является полярным растворителем с высокой растворяющей способностью по отношению к органическим веществам. Вода, с другой стороны, является универсальным растворителем и играет важную роль в поддержании стабильности системы. В зависимости от соотношения этанола и воды в смеси, свойства растворителя могут изменяться. Например, при увеличении концентрации этанола растворитель становится более полярным и активным по отношению к определённым классам органических соединений. Близость значений pK_a воды и этанола (pK_a этанола 16,0 [26], pK_a воды 15,7 [27]) даёт им возможность образовывать прочные межмолекулярные водородные связи, что даёт хорошую растворимость низших спиртов в воде [28]. После выбора растворителя необходимо подобрать титрант, который можно было бы использовать в данном растворителе.

1.1.1.2 Выбор титранта для потенциометрического титрования в апротонных и смешанных средах

Выбор пиридина в качестве титранта для потенциометрического титрования в апротонном растворителе был обусловлен тем, что он является соединением с сильно дифференцированными кислотно-основными свойствами и проявляет выраженную склонность к катионному гомосопряжению с сопряженными кислотами [21,22].

Согласно [25] в ряде случаев титрование возможно только при взаимодействии титруемого соединения со вспомогательным реагентом перед титрованием или в процессе него. В частности, при титровании оснований солей галогеноводородных кислот (титрант – 0,1 моль/дм³ раствор хлорной

кислоты) в титруемый раствор добавляют избыток ацетата ртути (II), что приводит к образованию недиссоциирующих комплексных галогенидов ртути и эквивалентного количества легко и количественно протонирующихся ацетат-ионов. В среде уксусного ангидрида титруют основания тем же титрантом соли хлористоводородной кислоты без использования ацетата ртути (II), поскольку в этой среде в отсутствие воды количественно протонируются непосредственно хлорид-ионы, что в обычных растворителях неосуществимо [25].

Также возможно титрование оснований соединений с азиридиновыми или оксирановыми циклами. Для этого в титруемом растворе должен присутствовать избыток нуклеофилов — бромид- или йодид-анионов. Тогда при титровании в среде кислых растворителей или нитрометана (титрант – 0,1 моль/дм³ раствор хлорной кислоты) раскрытие азиридиновых или оксирановых циклов происходит количественно и быстро, с присоединением протона и аниона-нуклеофила. Таким образом, соединения, содержащие эти циклы, титруются как основания, но процесс практически необратим, поскольку не приводит к образованию катионов определяемых соединений [25].

Оптимальный объём титруемого раствора находится в диапазоне от 30 до 50 см³, а целесообразный расход титранта находится в пределах от 5 до 9 см³ [25]. Однако, учитывая, что исследуемые вещества являются потенциальными лекарственными средствами, такой высокий расход анализируемого вещества нерационален. В связи с этим, была модифицирована электрохимическая ячейка, позволяющая сократить объём титруемого раствора до 4 см³.

1.1.1.3 Выполнение калибровки потенциометрического титратора для работы в апротонных и смешанных средах

В водной среде калибровка осуществляется с использованием трёх водных буферных растворов, рН которых соответствует 9,18, 6,86 и 1,65. Для апротонной и смешанной среды на данный момент времени в общем доступе

нет специализированных буферных растворов, что делало проведение измерений на приборе, калиброванном по водным растворам, невозможным. Для учета этой особенности была введена поправка, согласно статье [29].

В работе [29] гальванический элемент был откалиброван путем введения поправки через определение удельной постоянной $E_a^{o'}$ элемента в кислой области. $E_a^{o'}$ включает в себя стандартный потенциал стеклянного электрода, потенциал электрода сравнения, диффузионный потенциал и коэффициенты активности. Определение $E_a^{o'}$ основано на полной диссоциации хлороводородной кислоты (HCl) в диметилформамиде. При наличии $E_a^{o'}$ значение pH в ячейке можно определить по формуле:

$$\text{pH} \cong \text{pC}_\text{H} = \frac{E_a^{o'} - E}{59,16} \quad (3)$$

где pC_H – показатель концентрации протонов;

E – потенциал в точке эквивалентности, мВ.

Важно отметить, что измеряется зависимость потенциала индикаторного электрода от количества добавленного титранта, а не зависимость pH от объёма титранта. Поскольку точное измерение pH в апротонных и смешанных средах невозможно с использованием приборов, откалиброванных по водным буферным растворам.

1.1.1.4 Рабочие условия для определения pKa методом потенциометрического титрования в апротонной и смешанной среде соединений из ряда триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов

Опираясь на представленные выше литературные данные, был выбран ряд условий для проведения потенциометрического титрования соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов (таблица 2) с целью определения pKa этих веществ.

Таблица 2 – Условия для потенциметрического титрования в апротонной и смешанной среде соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов

Концентрация определяемого вещества, моль/дм ³	Объем определяемого вещества, пошедший на титрование	Растворитель	Титрант	Электрод	Продувка аргоном
Апротонная среда					
0,01	15	ацетонитрил	Раствор пиридина (0,01 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	+
0,01	15	ацетонитрил	Раствор пиридина (0,01 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	–
0,1	15	ацетонитрил	Раствор пиридина (0,01 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	+
0,1	15	ацетонитрил	Раствор пиридина (0,01 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	–
0,1	15	ацетонитрил	Раствор пиридина (0,1 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	–
0,1	5	ДМФА	спиртовой раствор NaOH (0,1 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	+

Продолжение таблицы 2

0,1	5	ДМФА	спиртовой раствор NaOH (0,1 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	–
0,1	5	ДМФА	спиртовой раствор NaOH (0,01 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	–
Смешанная среда					
0,1	4	Этанол + вода	спиртовой раствор KOH (0,1 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	+
0,1	4	Этанол + вода	спиртовой раствор KOH (0,1 моль/дм ³)	стеклянный комбинированный	–

Помимо потенциметрического титрования спектрофотометрический метод анализа также подходит для определения pK_a и обладает рядом преимуществ: высокая чувствительностью, возможность существенного снижения концентрации определяемых веществ, простота использования аппаратуры, которая не требует сложной настройки и калибровки. В свою очередь, быстрая настройка спектрофотометров сокращает время, затрачиваемое на анализ, в отличие от потенциметрического титрования, где процесс проведения анализа может затягиваться из-за медленной стабилизации потенциала.

1.1.2 Спектрофотометрическое определение рКа в смешанной среде

У спектрофотометрического определения рКа в смешанной и апротонной среде так же, как и у потенциометрического титрования, может возникнуть ряд проблем связанных, например, с использованием апротонных растворителей. Существуют сложности, связанные с выбором длин волн, предварительной подготовки анализируемого вещества, изменением преломляющих свойств среды и возможностью диссоциации молекул или ионов в результате кислотно-основной реакции. Это может привести к отклонению от закона Бугера-Ламберта-Бера, следствием чего является снижение точности определения.

1.1.2.1 Формула для расчета рКа, определенной спектрофотометрическим методом анализа

Адсорбционная молекулярная спектроскопия является эффективным методом изучения химических равновесий в растворах. Определение констант равновесий этим методом основывается на использовании трех законов:

закон действующих масс:

$$K_c = \frac{C_D^d \cdot C_C^c}{C_A^a \cdot C_B^b}, \quad (4)$$

где $C_D^d \cdot C_C^c$ – равновесные концентрации продуктов реакции;

$C_A^a \cdot C_B^b$ – равновесные концентрации исходных реагентов;

a, b, c, d – стехиометрические коэффициенты.

основной закон светопоглощения:

$$\lg \frac{I}{I_0} = A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot l \cdot c, \quad (5)$$

где I_0 – интенсивность первоначального излучения, падающего на объект;

I – интенсивность излучения, прошедшего через объект;

A_λ – оптическая плотность раствора;

c – концентрация, моль/дм³;

l – толщина поглощающего слоя, см;

ε_λ – молярный коэффициент светопоглощения при данной длине волны.

закон аддитивности оптических плотностей:

$$A^\lambda = \sum A_i^\lambda = l \cdot \sum \varepsilon_i^\lambda \cdot c_i = l \cdot \sum \alpha_i \cdot \varepsilon_i^\lambda \cdot c_i, \quad (6)$$

где A^λ – оптическая плотность раствора;

ε_i^λ – молярные коэффициенты поглощения молекулярной и ионизированной форм;

l – толщина поглощающего слоя, см;

c_i – молярная концентрация соединения в растворе, моль/дм³;

α_i – молярные доли молекулярной и ионизированной форм.

Исходя из формулы 6 с учетом того, что молярная доля молекулярной формы кислоты равна $\alpha_{HA} = \frac{[H^+]}{[H^+] + K_a}$, а молярная доля ионизированной формы равна $\alpha_A = \frac{K_a}{[H^+] + K_a}$, можем записать:

$$A = \frac{A_{HA} \cdot [H^+]}{[H^+] + K_a} + \frac{A_A \cdot K_a}{[H^+] + K_a} \quad (7)$$

При выражении из этого уравнения K_a получаем:

$$K_a = \frac{(A - A_{HA})}{(A_A - A) \cdot [H^+]} = \frac{(A - A_{HA})}{(A_A - A) \cdot 10^{-pH}}, \quad (8)$$

$$pK = pH + \lg \frac{(A_A - A)}{(A - A_{HA})} \quad (9)$$

Полученные уравнения являются основными для расчета константы диссоциации [30].

1.1.2.2 Выбор условий для проведения спектрофотометрического определения

Спектрофотометрическое определение pK_a нитротриазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов в апротонных растворителях на данный момент времени затруднено. Поскольку при прохождении через раствор, содержащего исследуемое вещество, растворенного либо в ДМСО или ДМФА, ультрафиолетового излучения в диапазоне длин волн, в котором находится максимум поглощения соединений, наблюдается образование «творожистого» осадка на стенках кюветы. Это приводит к искажению оптических измерений и ошибкам в интерпретации результатов. Однако смешанный растворитель не подвержен этой проблеме, поэтому определение pK_a проводилось только в нем. В качестве смешанного растворителя использовали раствор из равных частей этанола и буферного раствора.

В качестве буферного раствора рассматривалось несколько буферов с достаточно широким диапазоном pH. Буфер Бриттона-Робинсона (ББР). Это универсальный pH-буфер, используемый в диапазоне pH от 2 до 12. Он состоит из смеси 0,04 моль/дм³ борной кислоты, 0,04 моль/дм³ фосфорной кислоты и

0,04 моль/дм³ уксусной кислоты, которые оттитровываются до желаемого рН 0,2 моль/дм³ гидроксидом натрия [31].

Также рассматривался фосфатный буфер, который состоит из смеси двух компонентов: слабой кислоты и сопряженного с ней основания, полученных из фосфорной кислоты (H₃PO₄). Данные буферные растворы способны поддерживать диапазон рН от кислого до слегка щелочного, что делает их универсальными для широкого спектра экспериментов. Также он обеспечивает физиологическую среду рН, подходящую для изучения биологических молекул и манипулирования ими. Однако, важно отметить, что фосфатный буфер имеет ограничение. При чрезвычайно высоких или низких значениях рН (за пределами диапазона рКа фосфорной кислоты) его буферная способность ограничена. Кроме того, фосфатные буферы потенциально могут взаимодействовать с определенными биологическими молекулами или мешать конкретным экспериментальным методам [32].

Ацетатный буферный раствор также способен поддерживать широкий диапазон рН, что делает его применения в качестве среды возможным. К тому же ацетатные буферы недороги и просты в приготовлении, их можно хранить при комнатной температуре [33], в отличие от фосфатных буферных растворов, чувствительных к изменениям температуры, вследствие которых могут изменить свою буферную способность и стабильность рН [32]. Данный буферный раствор состоит из ацетата натрия и уксусной кислоты, регулирование его рН происходит путем добавления к раствору хлороводородной кислоты или гидроксида натрия [33].

Также подходящим буферным раствором является ТРИС-буфер. Это буферный раствор, который состоит из трис(гидроксиметил)аминометана (ТРИС) и хлористоводородной кислоты. ТРИС-буфер используется в различных областях, таких как биохимия, молекулярная биология, иммунология и другие. ТРИС-буфер имеет значение рН от 2 до 10, что делает его одним из наиболее

часто используемых буферов в биохимических исследованиях. Он также обладает высокой буферной емкостью, что позволяет поддерживать стабильный уровень pH даже при добавлении небольших количеств кислот или оснований [34].

Описанные выше буферные растворы предварительно выбраны для доведения pH смешанного растворителя в диапазоне от 2 до 9, так как данный диапазон позволяет полностью исследовать взаимосвязь pH с оптической плотностью, поскольку включает в себя кислую и щелочную среды, а для использования выбранных формул расчёта требуется знать значения оптических плотностей в обеих этих средах.

ГЛАВА 2. ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

2.1 Оборудование и средства измерения

Взвешивание навесок проводили на аналитические весы Shimadzu AUX220 1-го класса точности («Shimadzu», Япония) 1-го класса точности.

Потенциал регистрировался на общелабораторном рН/мВ/°С метре для широкого круга применения «Эксперт-рН» (ООО «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ», Россия) Рабочим электродом служил электрод стеклянный комбинированный ЭСК-10603 (ООО «Измерительная техника», Россия). Калибровка была проведена по трем водным буферным растворам, изготовленным согласно ТУ 2642-072-56278322-2009, рН которых равно 9,18, 6,86, 1,65. Также вводилась поправка – удельная постоянная $E_{a^{\circ}}$ элемента в кислотной области (E_{HCl}) [29].

Потенциометрическое титрование проводили в двухэлектродной ячейке схема представлена на рисунке 1.



Рисунок 1 – Схема электролитической ячейки для потенциометрического титрования

С целью устранения флуктуации диффузионного потенциала при потенциометрическом титровании в апротонной среде в качестве раствора

электролита использовался не водный раствор хлорида калия (KCl) 3 моль/дм³, а перхлорат лития (LiClO₄) 3 моль/дм³, растворённый в ДМФА [10].

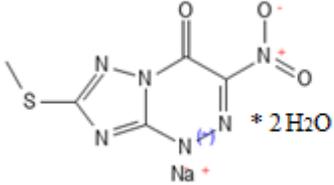
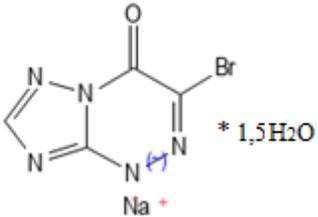
Измерение оптической плотности проводилось с использованием спектрофотометр ПЭ-5400УФ (ООО «ЭКРОСХИМ», Россия).

2.2 Реактивы и объекты исследования

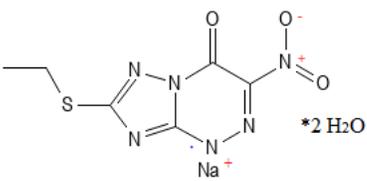
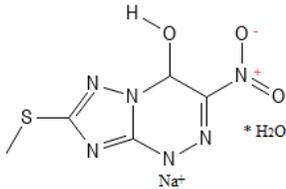
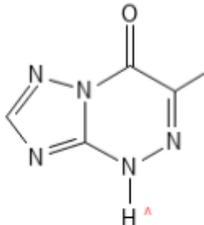
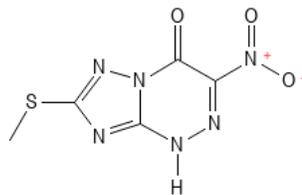
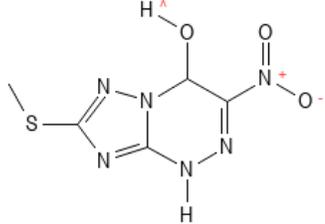
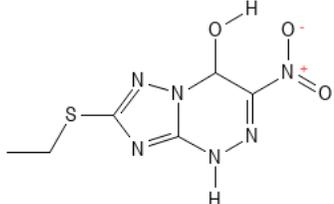
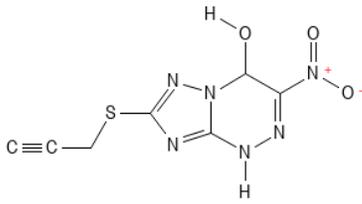
Объекты исследования

Представленные в таблице 3 соединения из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов (соединения 1-9) и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинидов (соединение 10) были синтезированы на кафедре органической и биомолекулярной химии ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина». Структура этих соединений была определена с использованием методов ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии, ВЭЖХ и элементного анализа.

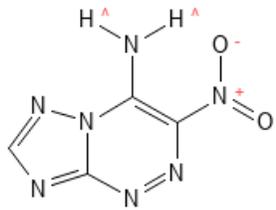
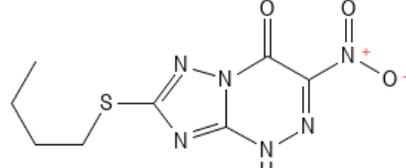
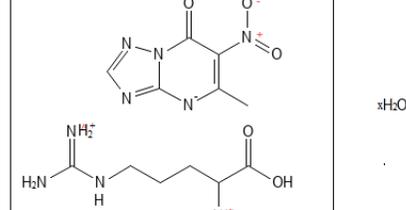
Таблица 3 – Объекты исследования

Наименование	Химическое наименование	Структурная формула
Соединение 1	3-нитро-4-оксо-7-метилсульфанил-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазиндигидрат натриевая соль	
Соединение 2	3-бром-4-оксо-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазинид натрия	

Продолжение таблицы 3

Соединение 3	3-Нитро-4-оксо-7-этилсульфанил-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин дигидрат натрия соль	
Соединение 4	Натрия 2 метилтио-6-нитро-7-гидрокси-4Н-1,2,4-триазоло-4,7-дигидро[5,1-с]-1,2,4-триазинид моногидрат	
Соединение 5	3-бром-4-оксо-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин	
Соединение 6	3-нитро-4-оксо-7-метилтио-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин	
Соединение 7	3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидро-7-метилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин	
Соединение 8	3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидро-7-этилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин	
Соединение 9	3-нитро-4-гидрокси-1,4-дигидро-7-пропаргилтио-[1,2,4]триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин	

Продолжение таблицы 3

Соединение 10	3-нитро-4-амино-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин	
Соединение 11	3-нитро-4-оксо-7-бутилсульфанил-1,2,4-триазоло[5,1-с][1,2,4]триазин	
Соединение 12	5-метил-6-нитро-7оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинид 1-аргенина, моногидрат	

Реактивы

Для проведения потенциометрического титрования в апротонном растворителе использовались такие растворители, как ацетонитрил марки «о.с.ч» от производителей США PanReac и ДМФА «о.с.ч» от того же производителя. Дополнительная очистка для растворителей не проводилась. Для приготовления титранта использовалась навеска гидроксида натрия «х.ч.» по ГОСТ 4328-77 и метанол «х.ч.» по ГОСТ 6995-77, также в качестве титранта использовался раствор пиридина «ч.д.а.» по ГОСТ 13647-78 изм. 1. В качестве электролита для потенциометрического титрования в апротонной среде использовался перхлорат лития (LiClO_4) 3 моль/дм³ и 0,1 моль/дм³, приготовленный из навески «о.с.ч» от производителей США Sigma-Aldric, растворенной в ДМФА. Для введения поправки при стандартизации использовалась хлороводородная кислота, приготовленная путем разбавления концентрированной кислоты «х.ч.» по ГОСТ 3118-67 и гидроксид натрия.

При проведении потенциометрического титрования в смешанной среде готовилась смесь из этанола 95% производства России ООО СБИО и воды деионизированной, полученной на установке ДВС-М/1НА(18)-N от «Медиана фильтр» (50 : 50 % об.). Титрант готовился путем растворения навески гидроксида калия «х.ч.» ГОСТ 24363-80 в метаноле. В качестве электролита использовался хлорид калия 3 моль/дм³, который был приготовлен из навески «х.ч.» ГОСТ 4234-77, растворенной в деионизированной воде.

Спектрофотометрическое определение проводилось в смешанном растворителе. В качестве такого растворителя использовалась смесь этанола 95% и ТРИС-буфер (50 : 50 % об.). Раствор ТРИС-буфера готовился растворением его навески производства Диаэм Россия в деионизированной воде, доводя до необходимого рН хлороводородной кислотой 1 моль/дм³.

ГЛАВА 3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1 Определение рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов методом потенциометрического титрования

3.1.1 Определение рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов в апротонной среде

Экспериментальные рабочие условия для определения рКа методом потенциометрического титрования были выбраны и адаптированы на основе теоретических предпосылок, представленных в первой главе и указанных в таблице 1.

Так изначально использовались растворитель ацетонитрил и титрант раствор пиридина с концентрацией 0,01 моль/дм³ [19-24]. Для экономии расхода анализируемого вещества использовали небольшие его концентрации 0,01 моль/дм³. Однако на кривых потенциометрического титрования **соединения 1** раствором пиридина, скачка в точке эквивалентности не наблюдалось. Также отмечалась долгая стабилизация потенциала системы, которая, вероятно, может быть связана с малой электропроводностью раствора. При добавлении в раствор электролита – LiClO₄ 0,1 моль/дм³, скачок титрования по-прежнему отсутствовал. Увеличении концентрации аналита в 10 раз (0,1 моль/дм³) не привело к улучшению результатов. Согласно [22] на аналитический сигнал при титровании в неводных средах может оказывать мешающее влияние растворенный кислород. Для устранения данной проблемы перед началом и вовремя эксперимента систему продували инертным газом – аргоном. Положительного результата не наблюдалось (рисунок 2).

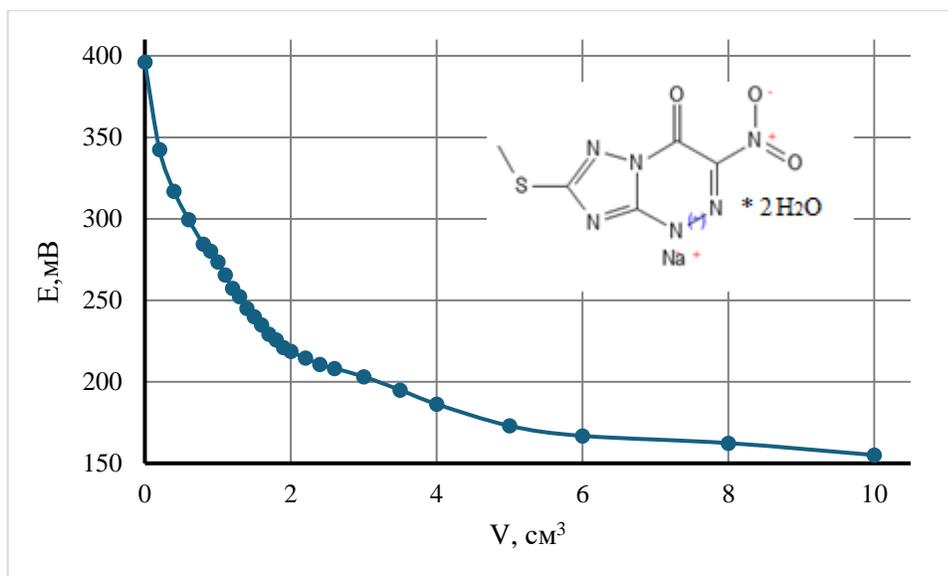


Рисунок 2 – Интегральная кривая потенциметрического титрования 0,1 моль/дм³ раствора **соединения 1** в ацетонитриле 0,1 моль/дм³ раствором пиридина

В работах [8,9] соли нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов (в частности **соединение 1**) в апротонных средах претерпевают превращения в ионной форме, и, вероятно, не подвергаются диссоциации, вследствие чего они возможно не могут проявлять кислотные свойства. Для подтверждения данного предположения было проведено потенциметрическое титрование кислот этих солей, однако зафиксировать скачок титрования не удалось (рисунок 3). По-видимому, данные рабочие условия не подходят для проведения потенциметрического титрования соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов.

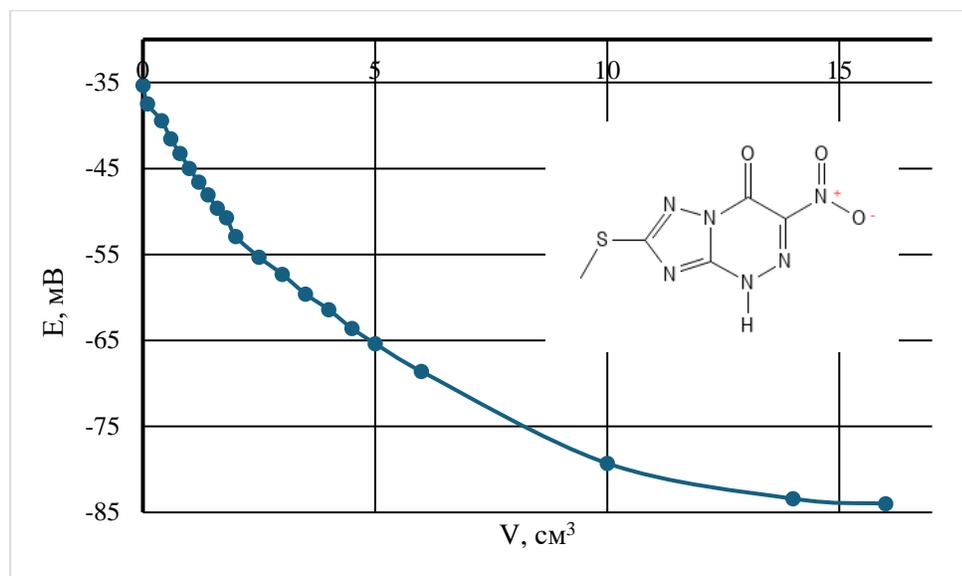


Рисунок 3 – Интегральная кривая потенциометрического титрования 0,1 моль/дм³ раствора **соединения 6** в ацетонитриле 0,1 моль/дм³ раствором пиридина

Следующим этапом было определения рКа нитротриазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-*a*]пиримидинов в ДМФА. В качестве растворителя использовался ДМФА, титрантом служил 0,1 моль/дм³ спиртовой раствор NaOH. Концентрация исследуемых веществ – 0,1 моль/дм³, раствор электролита – LiClO₄ 0,1 моль/дм³ для ускорения стабилизации потенциала. Первоначально в качестве объектов определения было решено взять две натриевые соли (**соединения 1 и 2**) и их протонированные формы (**соединения 6 и 5**). Выраженный скачок титрования в выбранных условиях наблюдался только у кислот нитротриазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов (рисунок 4, 5).

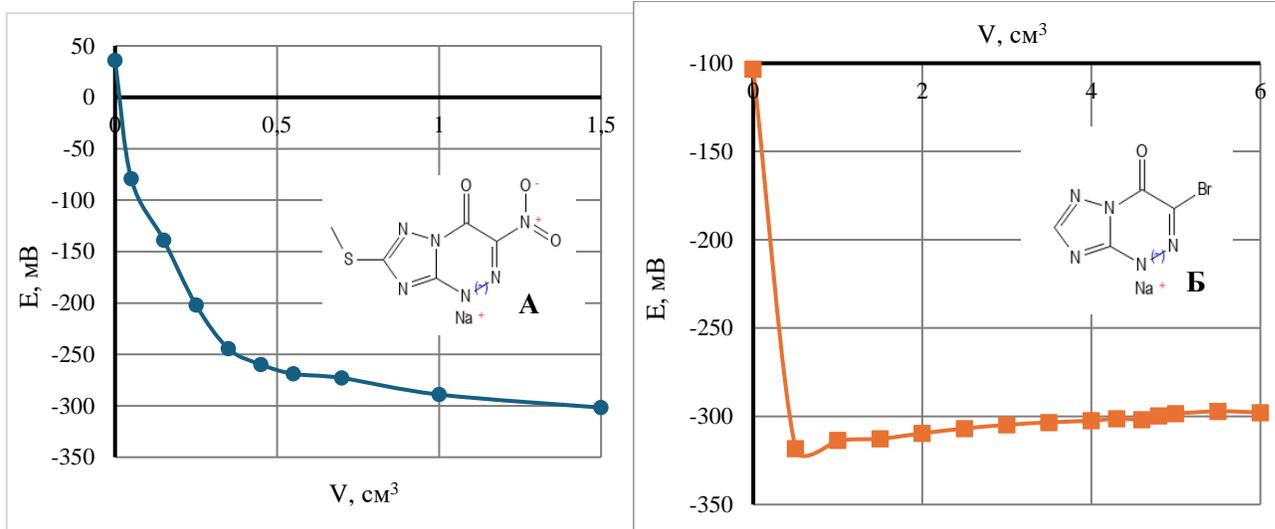


Рисунок 4 – Интегральные кривые потенциметрического титрования 0,1 моль/дм³ растворов **соединений 1 (А) и 2 (Б)** в ДМФА 0,1 моль/дм³ спиртовым раствором NaOH

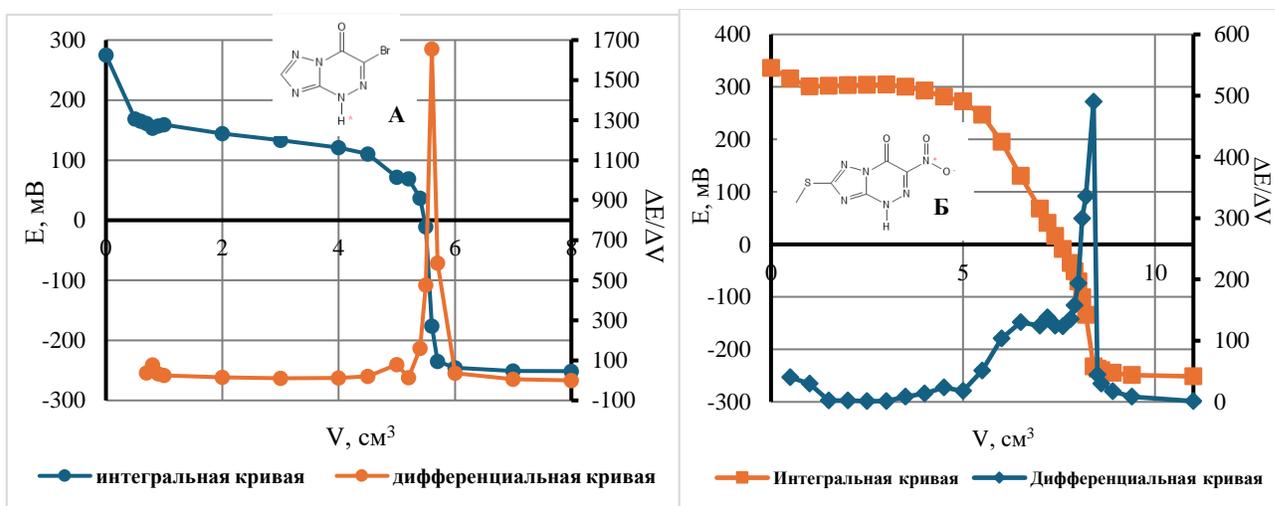


Рисунок 5 – Интегральная и дифференциальная кривые потенциметрического титрования 0,1 моль/дм³ растворов **соединений 5 (А) и 6 (Б)** в ДМФА 0,1 моль/дм³ спиртовым раствором NaOH

По данным фармстатьи [25] необходимо учитывать влияние растворенного углекислого газа на полноту протекания реакции в процессе титрования с использованием основных растворителей. Поэтому во все 4 системы была добавлена продувка аргоном. В системах с натриевыми формами солей скачок на кривой по-прежнему отсутствует, в системах же с кислыми формами

нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов величина скачка титрования была менее выражена, наблюдалось увеличение времени стабилизации равновесного потенциала в 3 раза по сравнению с условиями без барботирования газом. Поэтому решено было отказаться от продувки аргоном.

Исследование натриевых солей и их кислот позволяет сделать предположение, что в апротонной среде все натриевые соли не диссоциируют и не проявляют кислотные свойства.

Исходя из полученных данных, можно сделать предположение, что кислые свойства в себе несет водорода сопряженный с азотом в положении 1. Вероятно это связано со структурой нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов: электронная плотность молекул смещена в сторону нитро- и оксо- групп, в результате чего связь атома азота в первом положении с любым противоионом становится ионной.

Для подтверждения данного предположения было принято решение получить рКа **соединения 12**, которое относится к другому классу веществ нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов. На рисунке 6 наблюдается слабовыраженный скачок титрования соответствующий $pK_a = 8,46 \pm 0,11$. По-видимому, кислотными свойствами обладает один из атомов водорода в L-аргининовом хвосте. Полученное значение рКа указывает на возможность самопротонирования **соединения 12** в неводных средах, что также хорошо согласуется с ранее полученными данными [8].

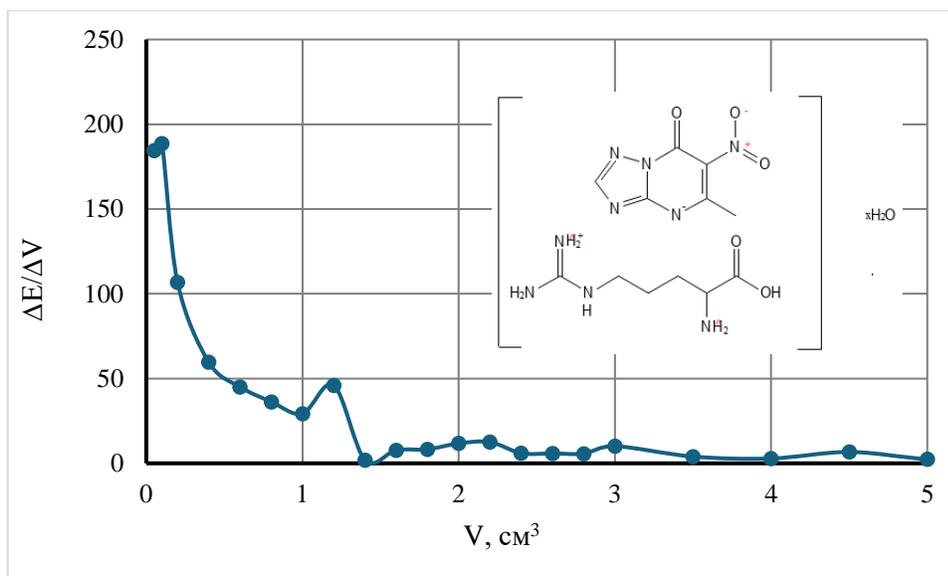


Рисунок 6 – Дифференциальная кривая потенциметрического титрования 0,1 моль/дм³ раствора **соединения 12** в ДМФА 0,1 моль/дм³ спиртовым раствором NaOH

Согласно теории Усановича [11], в качестве кислоты в апротонных растворах могут выступать также гидрокси- и амино-группы. Поэтому большой интерес представляет **соединение 4, 7, 8, 9**, у которых в 4 положении есть гидроксигруппа и **соединение 10**, где атом азота в 1 положении не протонирован, но имеется аминогруппа в 4.

На рисунке 7 приведены интегральные и дифференциальные кривые титрования **соединения 10**. Рассчитанное $pK_a = 14,85 \pm 0,10$ дает основание предполагать, что аминогруппа **соединения 10** проявляет кислотные свойства, однако они менее кислые, чем атомы водорода в 1 положении. Для подтверждения данного предположения было проведено моделирование с помощью квантово-химические расчетов термодинамических констант отрыва протона. После оптимизации структуры молекулы (рисунок 7, А) согласно расчётам энергий Гиббса для процесса депротонирования **соединения 10** наибольшая вероятность отрыва атома водорода существует у атома 13 ($\Delta G =$

11,02 эВ), так как второй атом связан водородной связью с кислородом из нитрогруппы.

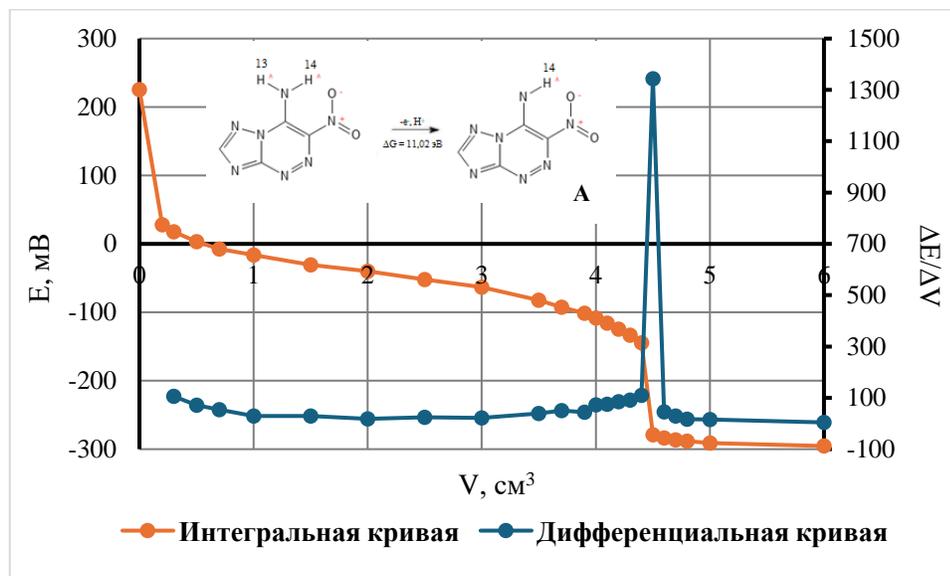


Рисунок 7 – Интегральная и дифференциальная кривые потенциметрического титрования 0,1 моль/дм³ раствора **соединения 10** в ДМФА 0,1 моль/дм³ спиртовым раствором NaOH вставка: А – схема депротонирования 13 протона у **соединения 10**

Получение кривые титрования **соединений 7, 8, 9** из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов представленные на рисунке 8, позволили рассчитать рКа этих кислот. Результаты определения рКа соединения нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и пиримидинов в апротонных средах сведены в таблице 4. Сравнивая значения рКа для **соединений 5, 6** и **7, 8, 9** можно заметить, что введение в структуру гидроксильную группу вероятно приводит к снижению кислотных свойств вещества. Скорей всего это может быть связано с перераспределением электронной плотности в молекуле.

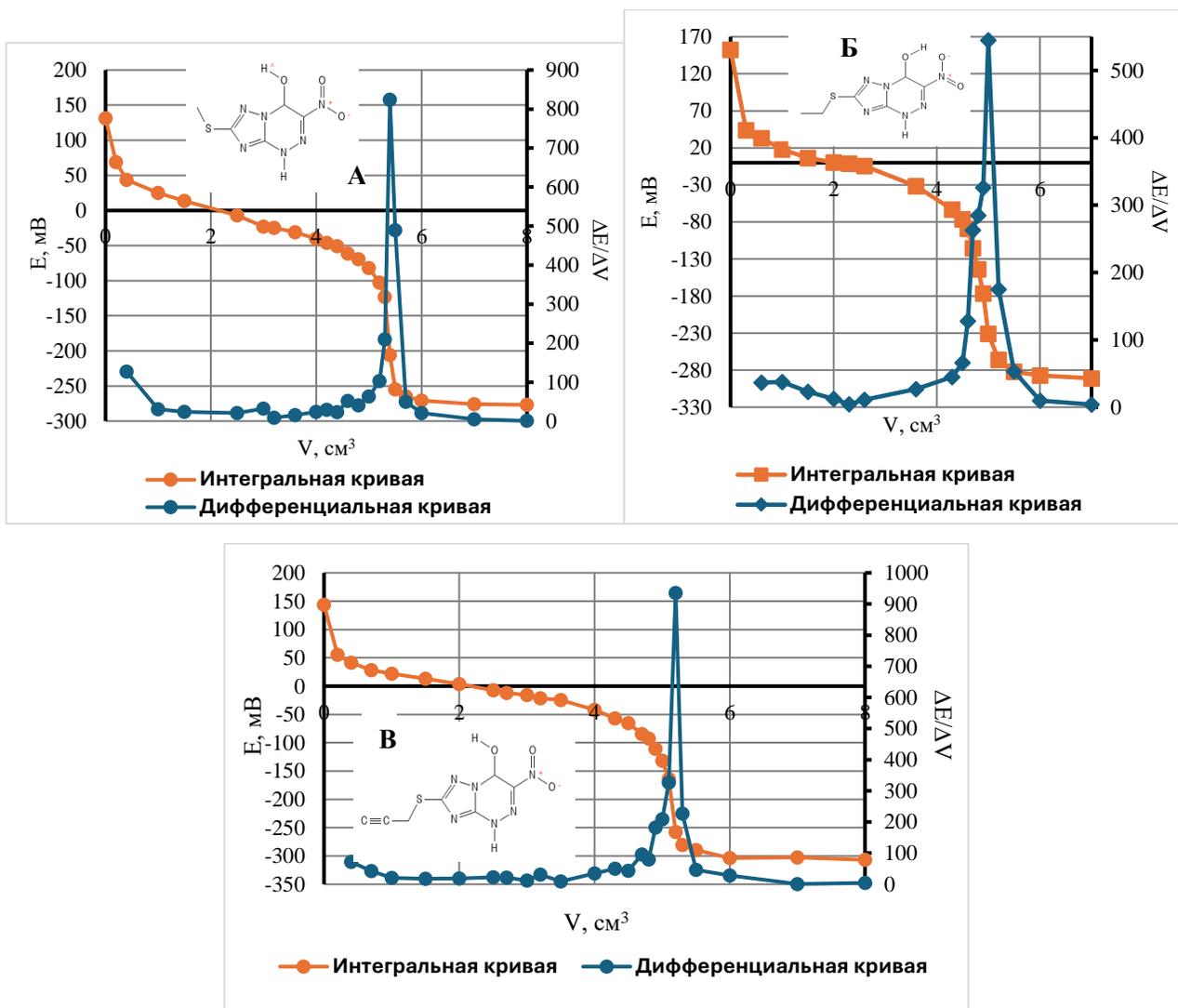


Рисунок 8 – Интегральная и дифференциальная кривые потенциметрического титрования 0,1 моль/дм³ растворов соединений **6** (А), **7** (Б) и **8** (В) в ДМФА 0,1 моль/дм³ спиртовым раствором NaOH

Однако эти данные не позволяют сделать вывод о кислотных свойствах OH-группы. Поэтому в качестве следующей модели было выбрано соединение **4** – натриевая форма нитрогидрокстриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов (рисунок 9). Полученные данные свидетельствуют о том, что **соединение 4** может являться донором протонов в апротонных растворителях за счет OH-группы, и, как следствие, самопротонироваться. Эти данные хорошо согласуются с полученными ранее [35].

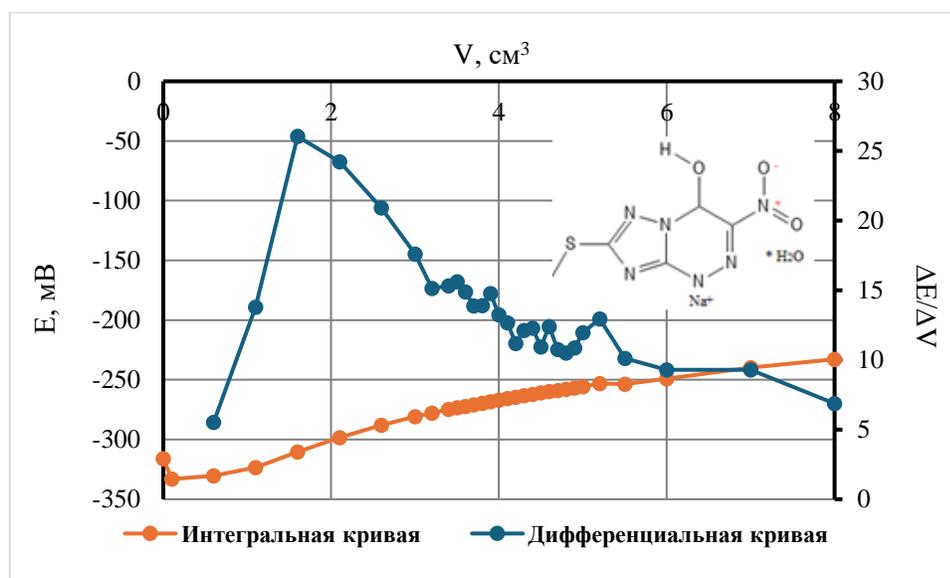
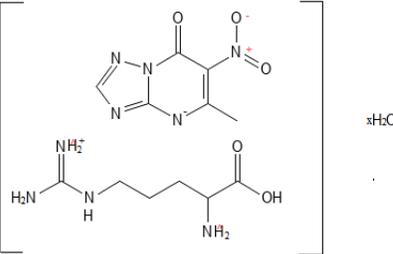
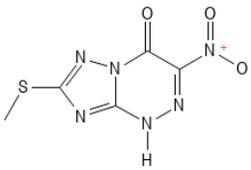
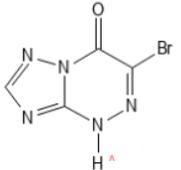
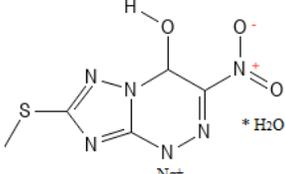
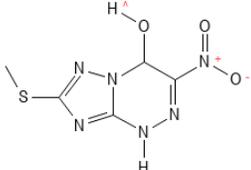
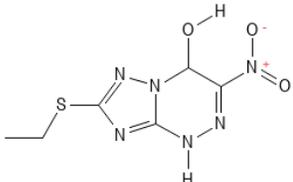
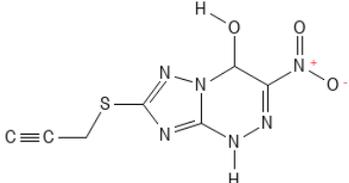
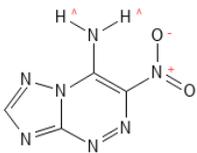


Рисунок 9 – Интегральная и дифференциальная кривые потенциметрического титрования 0,1 моль/дм³ раствора **соединения 4** в ДМФА 0,1 моль/дм³ спиртовым раствором NaOH

Таблица 4 – Результаты определения рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов потенциметрическим титрованием в апротонной среде

Наименование	Структурная формула соединения	рКа
Соединение 1		—
Соединение 2		—
Соединение 3		—

Продолжение таблицы 4

Соединение 12		8,46 ± 0,11
Соединение 6		13,24 ± 0,14
Соединение 5		11,43 ± 0,20
Соединение 4		15,87 ± 0,16
Соединение 7		12,37 ± 0,21
Соединение 8		13,20 ± 0,13
Соединение 9		14,13 ± 0,08
Соединение 10		14,85 ± 0,10

3.1.2 Определение pKa соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов в смешанной среде

Как было сказано ранее, транспорт лекарственных средств в организме человека может происходить в смешанных (внутриклеточная среда, кровь, лимфа) средах [10]. Согласно работам [8,9] предположительно в средах, в которых присутствуют доноры протонов, катион натрия у **соединения 1** и L-аргининовый остаток у **соединения 12** заменяется на протон, и, благодаря этому, молекула становится псевдокислотой и проявляет уже кислотные свойства. Кроме того, не все соединения из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов растворимы в апротонных растворителях. Поэтому, проведение исследований в смешанной среде позволило рассмотреть способность этих молекул к проявлению кислотных свойств в условиях сниженной концентрации протонов.

Рабочие условия для потенциометрического титрования в смешанной среде были подобраны экспериментально. В качестве смешанного растворителя была выбрана смесь этанола и воды, так как у двух данных сред достаточно близкие pKa (pKa воды 15,9 [26], а pKa этанола 15,9 [27]), благодаря чему диссоциация и растворение определяемых веществ в данном растворителе будет проходить равномерно. В качестве титранта – спиртовой раствор КОН 0,1 моль/дм³.

С целью ускорения стабилизации потенциала в системе было принято решение о внедрении в систему продувки аргона. Это привело к появлению менее выраженного скачка титрования (рисунок 10), а длительность установления сигнала в системе увеличилась. Поэтому было решено отказаться от физического удаления кислорода.

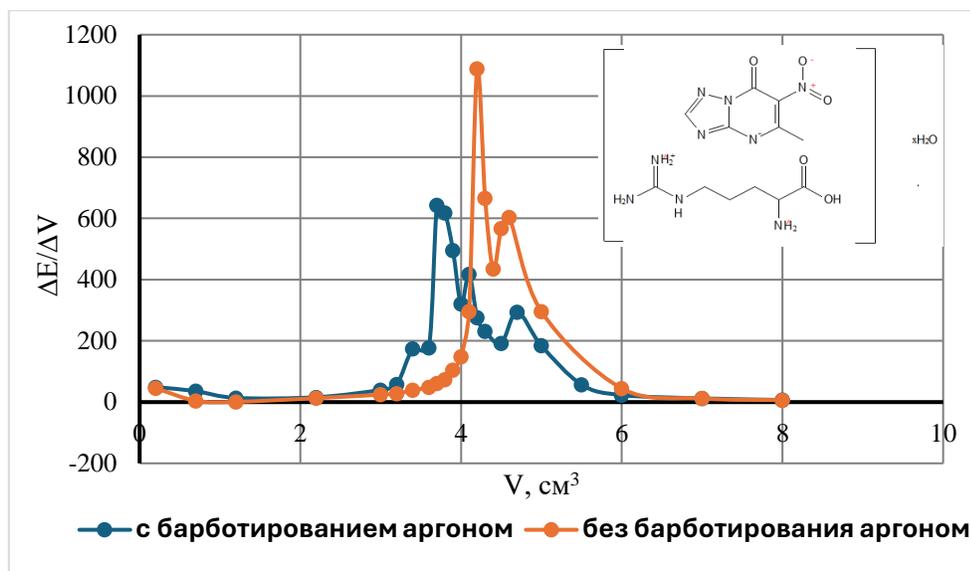


Рисунок 10 – Дифференциальные кривые потенциметрического титрования 0,1 моль/дм³ раствора **соединения 12** в смеси этанол-вода 0,1 моль/дм³ спиртовым раствором КОН

На рисунке 11 приведены интегральные и дифференциальные зависимости для **соединений 1, 3, 12, 11, 6**. Выбранные рабочие условия для титрования в смешанной среде позволили получить выраженные скачки титрования как для натриевых форм соединений ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов, так и для протонированных форм. Рассчитанные рКа молекул сведены в таблицу 5. Полученные данные могут стать дополнительным доказательством выдвинутой гипотезы [8], что в протонированных средах натриевые соли нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов могут существовать в качестве протонированной формы и, следовательно, проявлять кислотные свойства.

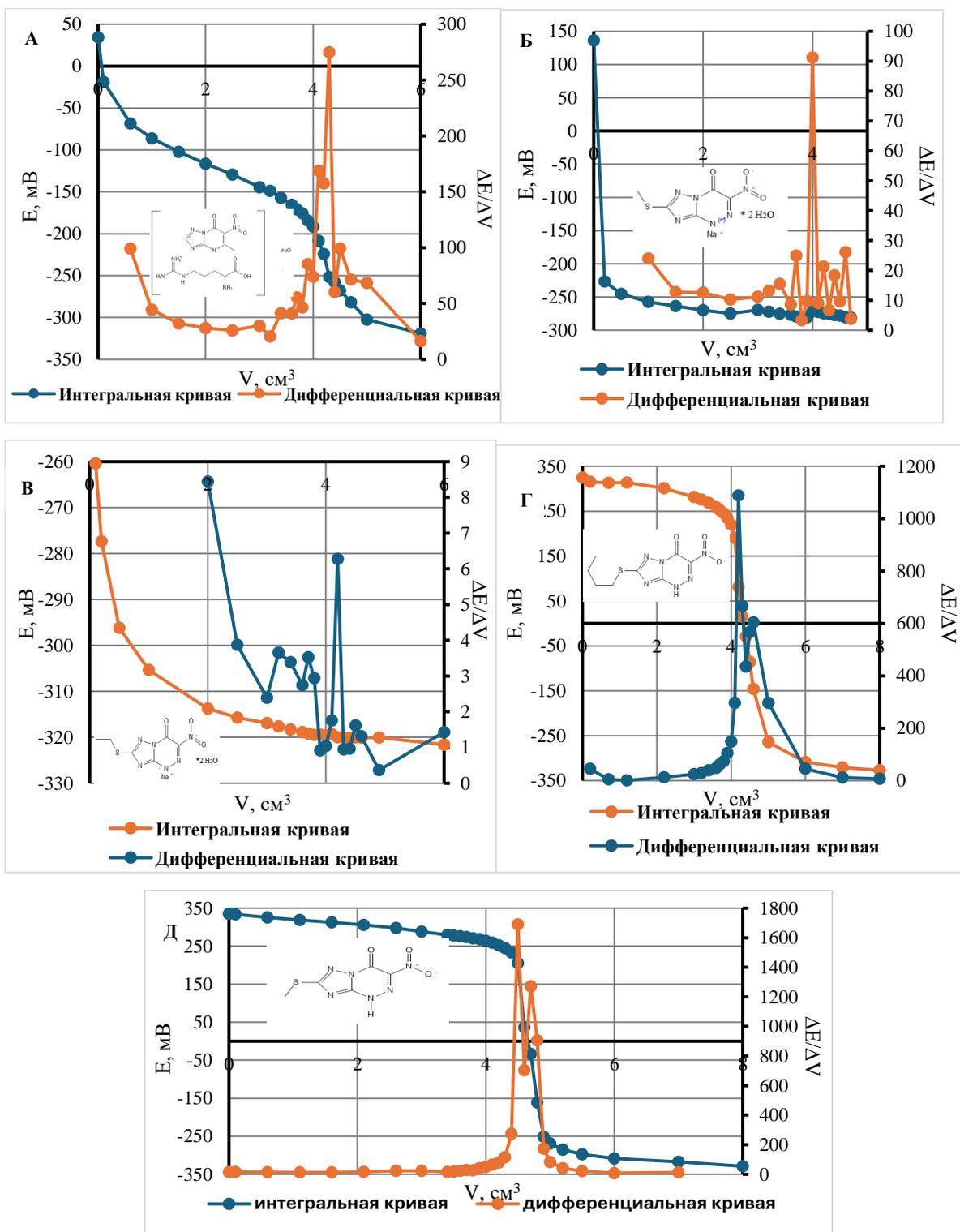
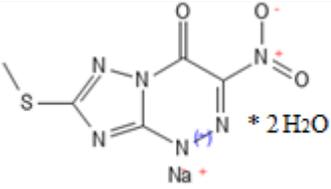
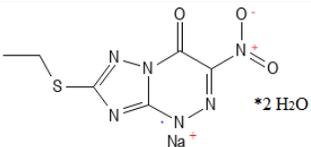
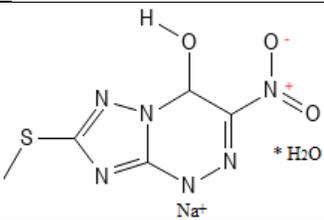
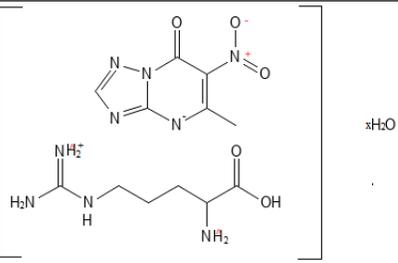
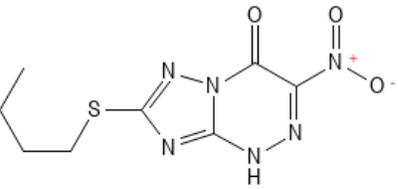
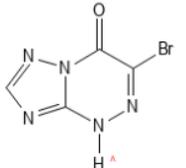
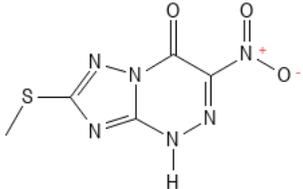
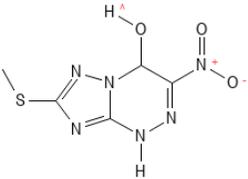
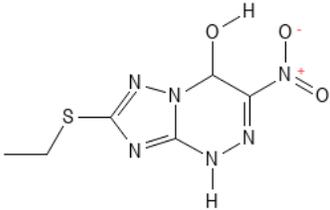
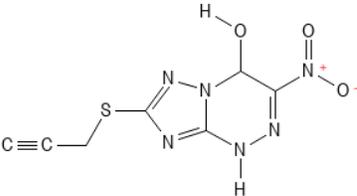


Рисунок 11 – Интегральная и дифференциальная кривые потенциметрического титрования 0,1 моль/дм³ растворов соединения 12 (А), 1 (Б), 3 (В), 11 (Г), 6 (Д) в смеси этанол-вода 0,1 моль/дм³ спиртовым раствором КОН

Таблица 5 – Результаты определения рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов потенциометрическим титрованием в смешанной среде

Наименование	Структурная формула соединения	рКа
Соединение 1		7,76 ± 0,13
Соединение 3		8,53 ± 0,15
Соединение 4		7,34 ± 0,25
Соединение 12		7,46 ± 0,08
Соединение 11		1,86 ± 0,10
Соединение 5		2,15 ± 0,21
Соединение 6		2,60 ± 0,09

Продолжение таблицы 5

Соединение 7		3,55 ± 0,31
Соединение 8		4,03 ± 0,32
Соединение 9		5,06 ± 0,12

Несмотря на полученные результаты, потенциометрическое титрование имеет существенный недостаток: для определения рКа данным методом требуется слишком большой расход определяемых веществ. Применение спектрофотометрического метода анализа позволяет использовать небольшие навески анализируемых веществ (концентрации порядка 10^{-5} моль/дм³). Данный метод возможно использовать только для проведения анализа в смешанных средах, так как в апротонной среде максимум поглощения веществ ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов находится в области разложения фона – ДМФА.

3.2 Спектрофотометрическое определение рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов в смешанной среде

В качестве смешанного растворителя использовалась смесь этанола и буферного раствора (50 : 50 % об.). На первом этапе рассматривались буферные растворы, содержащие катионы щелочных металлов: Бриттона-Робинсона, фосфатный, ацетатный. Все указанные буферные растворы имеют максимум поглощения в том же диапазоне длин волн, что и объекты исследования, в результате чего происходит наложение пиков. Применение таких буферов затруднено, вероятно, из-за присутствия ионов натрия в его составе. Поскольку согласно [8] катион натрия, возможно, оказывает мешающее воздействие при определении соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов.

На следующем этапе был выбран буферный раствор, не содержащий катионов щелочных металлов –ТРИС-буфер. Концентрация ТРИС-буфера для определения рКа спектрофотометрическим методом составила 0,04 моль/дм³. С целью экономии расхода определяемых веществ их концентрация составили 10⁻⁵ моль/дм³. Первоначально были зарегистрированы спектры для соединений **1** и **12** (рисунки 12 и 13).

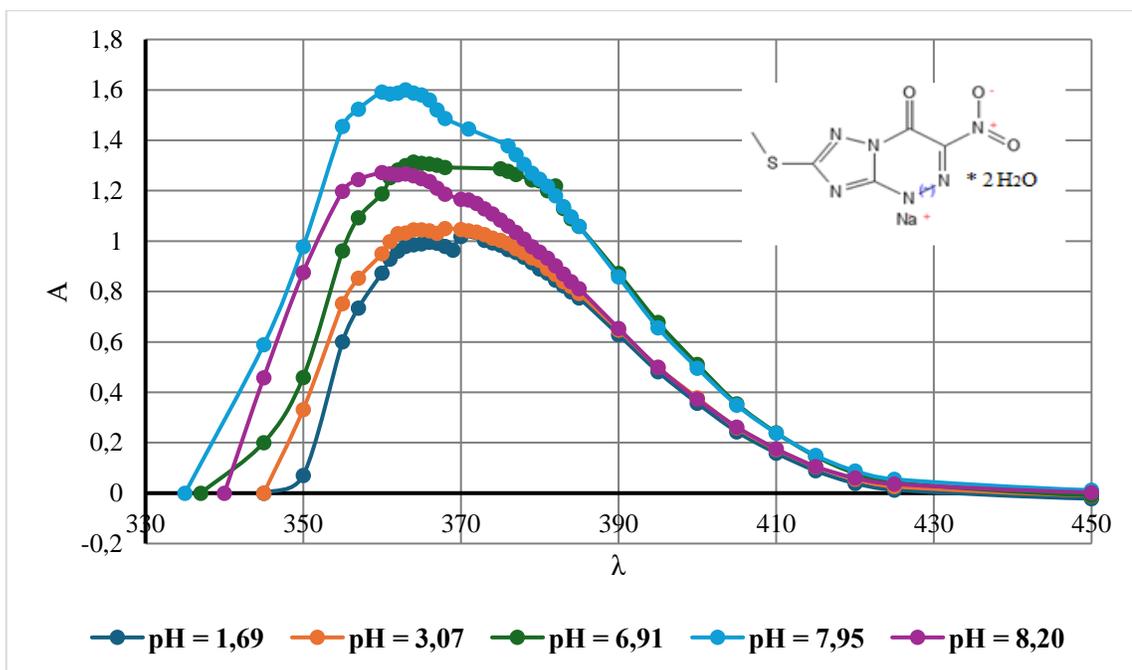


Рисунок 12 – График зависимости оптической плотности от длины волны 10^{-5} моль/дм³ соединения **1** при различных значениях pH

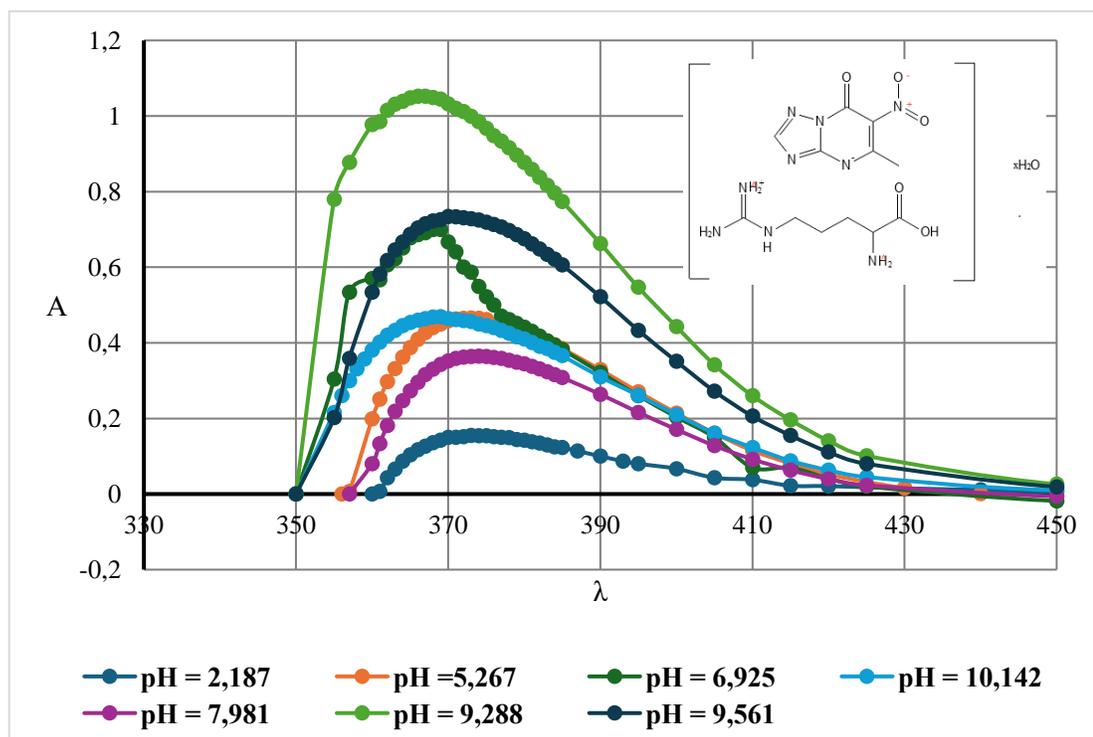
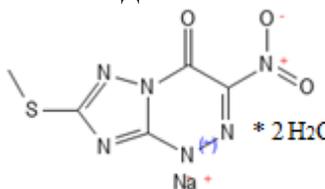
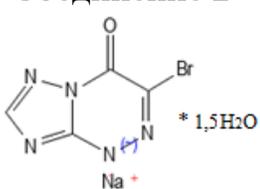


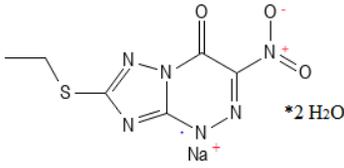
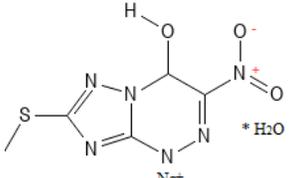
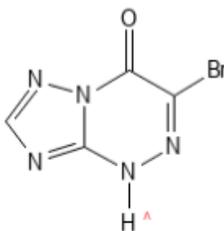
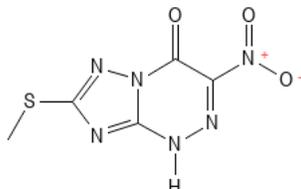
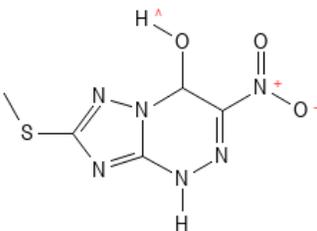
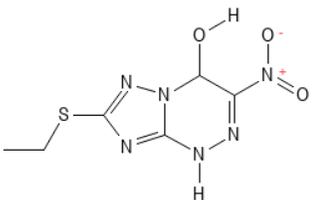
Рисунок 13 – График зависимости оптической плотности от длины волны 10^{-5} моль/дм³ соединения **12** при различных значениях pH

По данным из рисунков 12 и 13 видно, что оптическая плотность раствора при максимумах поглощений растет до рН 8. Далее наблюдается спад оптической плотности. Согласно исследованиям редокс свойств этих молекул [8,9], прослеживается линейная зависимость потенциала первого катодного пика от рН от 2 до 7,5 для соединения 1 и от 2 до 7 для **соединения 12**. Далее наклон кривой $E=f(\text{pH})$ выполаживается. Вероятно, в более щелочных средах **соединения 1** и **12** существуют, по больше мере, в виде частиц с противоионами Na^+ и L-аргинина соответственно. Поэтому для расчета рКа брали значения оптических плотностей в максимумах при рН примерно равных 2, 7 и 8. Все полученные результаты по определению рКа веществ ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов сведены в таблицу 6.

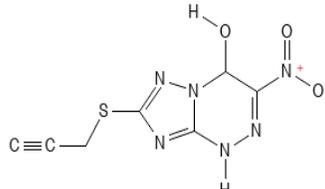
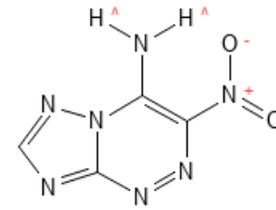
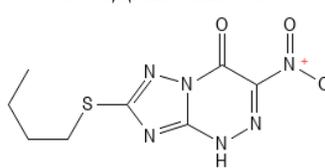
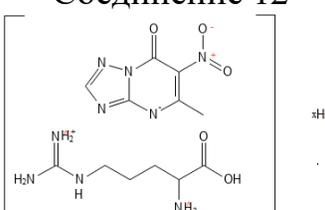
Таблица 6 – Результаты определения рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов методами потенциометрического титрования и спектрофотометрического анализа в апротонной и смешанной средах

Объект анализа	Потенциометрическое титрование			Спектрофотометрия
	рКа в апротонной среде	рКа в смешанной среде	рКа в водной среде [36, 37]	рКа в смешанной среде
<p>Соединение 1</p> 	—	$7,76 \pm 0,13$	3,11	$6,24 \pm 0,09$
<p>Соединение 2</p> 	—	—	3,61	—

Продолжение таблицы 6

<p>Соединение 3</p> 	—	8,53 ± 0,15	1,59	7,15 ± 0,14
<p>Соединение 4</p> 	15,87 ± 0,16	7,34 ± 0,25	—	—
<p>Соединение 5</p> 	11,43 ± 0,20	2,15 ± 0,21	—	—
<p>Соединение 6</p> 	13,24 ± 0,14	2,60 ± 0,09	7,0	7,75 ± 0,15
<p>Соединение 7</p> 	12,37 ± 0,21	3,55 ± 0,31	—	—
<p>Соединение 8</p> 	13,20 ± 0,13	4,03 ± 0,32	—	6,06 ± 0,16

Продолжение таблицы 6

<p>Соединение 9</p> 	$14,13 \pm 0,08$	$5,06 \pm 0,12$	<p>—</p>	$5,19 \pm 0,15$
<p>Соединение 10</p> 	$14,85 \pm 0,10$	<p>—</p>	<p>—</p>	<p>—</p>
<p>Соединение 11</p> 	<p>—</p>	$1,86 \pm 0,10$	<p>—</p>	<p>—</p>
<p>Соединение 12</p> 	$8,46 \pm 0,11$	$7,46 \pm 0,08$	<p>3,45</p>	$5,67 \pm 0,14$

Из данных приведенных в таблице 6 видно, что натриевые соли могут проявлять себя как кислоты, так как Na^+ -катион является подвижным. Однако в апротонной среде натриевые соли не диссоциируют. Также следует отметить, что чем более сильны апротонные свойства проявляет растворитель, тем менее сильны кислотные свойства молекулы. Кроме того в ряду нитротриазоло[5,1-*c*][1,2,4]триазинов, кислотные свойства может проявлять не только атом азота в 1 положении, но и гидроксильная группа, аминогруппа и L-аргениновый остаток. То есть если натриевые соли в апротонных растворителях не

диссоциируют, то при наличии у них ОН-группа могут проявляться кислотные свойства молекулы. Также ведет себя и аминогруппа.

Исходя из предоставленных данных были разработаны алгоритмы по определению рКа методами потенциометрического титрования и спектрофотометрического анализа веществ из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов в апротонных и смешанных средах.

3.3 Разработка алгоритмов определения рКа нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов методом потенциометрического титрования

3.4.1 Алгоритм определения рКа нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов в апротонной среде

На основании проведенных исследований по подбору рабочих условий для определению рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов методом потенциометрического титрования в апротонной среде был разработан алгоритм анализа, представленный в виде протокола (таблица 7).

Таблица 7 – Протокол потенциометрического титрования в апротонной среде

Алгоритм проведения определения рКа нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов методом потенциометрического титрования в апротонной среде	
Алгоритм измерения	Алгоритм предназначен для определения рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов. Определение проводят методом потенциометрического титрования с использованием стеклянного комбинированного электрода ЭСК-10603 в качестве рабочего электрода

Продолжение таблицы 7

<p>Средства измерений, вспомогательные устройства</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Аналитические весы Shimadzu AUX220 1-го класса точности («Shimadzu», Япония); – Общелабораторный рН/мВ/°С метр «Эксперт-рН» (ООО «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ», Россия); – Электрод стеклянный комбинированный ЭСК-10603 (ООО «Измерительная техника», Россия); – Магнитная мешалка; – Дозатор типа ПЛ-01-200 с комплектом наконечников; – Дозатор типа ПЛ-01-1000 с комплектом наконечников.
<p>Реактивы и материалы</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Стандартные образцы (СО) соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов; – Буферные растворы с рН 9,18, 6,86 и 1,65 изготовленные по ТУ 2642-072-56278322-2009; – Апротонный растворитель диметилформамид (PanReac); – Этанол 95% (ООО СБИО Россия) – Спиртовой раствор гидроксид натрия 0,1 моль/дм³; – Хлороводородная кислота 0,1 моль/дм³, растворенная в ДМФА; – Спиртовой раствор фенолфталеина; – Спиртовой раствор метилового-оранжевого; – Перхлорат лития 3 моль/дм³ и 0,1 моль/дм³, растворенный в ДМФА; – Янтарная кислота 0,05 моль/дм³, растворенная в метаноле; – Вода деионизованная, полученная на установке ДВС-М/1НА(18)-N «Медиана фильтр»;
<p>Подготовка электрохимической ячейки и ЭСК-10603 к выполнению измерений</p>	<p>Электролизер и электрод перед анализом и после проведения анализа ополаскивают деионизированной водой.</p> <p>Перед анализом электрод заполняют электролитом – перхлоратом лития 3 моль/дм³ и калибруют по трем буферным растворам с рН 9,18, 6,86 и 1,65.</p>

Продолжение таблицы 7

<p>Введение поправки</p>	<p>Перед началом измерения потенциала необходимо введение поправки. Для этого необходимо измерить потенциал хлороводородной кислоты 0,1 моль/дм³. Перед измерением потенциала HCl необходимо уточнить ее реальную концентрацию. Для этого в ячейку добавляют 3 см³ раствора хлороводородной кислоты, пару капель метилового-оранжевого и титруют стандартизированным раствором гидроксида натрия 0,1 моль/дм³. Концентрацию HCl рассчитывается, исходя из закона эквивалентов (формула 10)</p> $C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} = C_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{HCl}}, \quad (10)$ <p>где C_{NaOH} – концентрация гидроксида натрия, моль/дм³; V_{NaOH} – объем гидроксида натрия, затраченный на титрование, см³; C_{HCl} – концентрация хлороводородной кислоты, моль/дм³; V_{HCl} – объем раствора хлороводородной кислоты, см³.</p> <p>Гидроксид натрия стандартизируют по навеске янтарной кислоты. В ячейку добавляют 3 см³ раствора янтарной кислоты, пару капель фенолфталеина и титруют раствором гидроксида 0,1 моль/дм³. Концентрацию NaOH рассчитывают исходя из формул 11 и 12.</p> $C_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4} = \frac{m_{\text{навески}}}{V_{\text{м.к.}} \cdot M_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}} \cdot 10^3, \quad (11)$ <p>где $m_{\text{навески}}$ – масса навески янтарной кислоты, г; $V_{\text{м.к.}}$ – объем мерной колбы, в которой растворили навеску, см³; $M_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}$ – молярная масса эквивалента янтарной кислоты, г/моль.</p> $C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} = C_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4} \cdot V_{\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}, \quad (12)$ <p>где C_{NaOH} – концентрация гидроксида натрия, моль/дм³; V_{NaOH} – объем гидроксида натрия, затраченный на титрование, см³; $C_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}$ – концентрация янтарной кислоты, рассчитанная по формуле 11, моль/дм³; $V_{\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}$ – объем раствора янтарной кислоты, см³.</p>
--------------------------	---

Продолжение таблицы 7

Подготовка стандартно-го образца к анализу	Заранее рассчитанную и взвешенную навеску стандартного образца количественно переносят в пробирку и доводят объем раствора до 4 см ³ ДМФА и тщательно перемешивают с использованием магнитной мешалки. Приготовление происходит непосредственно в электролизере. Концентрация СО должна составлять 0,1 моль/дм ³
Выполнение измерений	В электролизере заранее растворяют навеску СО определяемого вещества в ДМФА, добавляют примерно 0,1 см ³ электролита – перхлората лития 0,1 моль/дм ³ и перемешивают раствор примерно в течение 30 с. Затем опускают в электролизер рабочий электрод и термопару. Регистрируют потенциал до добавления титранта и титруют раствор спиртовым раствором гидроксида натрия 0,1 моль/дм ³ , стандартизация которого описана выше. Затем строится зависимость $E = f(V)$. Операцию повторяют 3 раза. После каждого измерения ячейку промывают деионизированной водой.
Вычисление результатов анализа	<p>рКа определяемого вещества определяют по формуле 13:</p> $pK_a = 2 \cdot pH + \lg C_{\text{опр.в-ва}}, \quad (13)$ <p>где $C_{\text{опр.в-ва}}$ – концентрация определяемого вещества.</p> <p>рН в точке эквивалентности рассчитывают следующим образом:</p> $pH = \frac{E_a^{o'} - E_{т.э.}}{59,16}, \quad (14)$ <p>где $E_a^{o'}$ – удельная постоянная элемента в кислой области (E_{HCl}), мВ; E – потенциал в точке эквивалентности, мВ.</p>

3.4.1 Алгоритм определения рКа нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов в смешанной среде

На основании проведенных исследований по подбору рабочих условий для определению рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов методом потенциометрического

титрования в смешанной среде был разработан алгоритм анализа, представленный в виде протокола (таблица 8).

Таблица 8 – Протокол потенциметрического титрования в смешанной среде

Алгоритм проведения определения рКа нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов методом потенциметрического титрования в смешанной среде	
Алгоритм измерения	Алгоритм предназначен для определения рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов. Определение проводят методом потенциметрического титрования с использованием стеклянного комбинированного электрода ЭСК-10603 в качестве рабочего электрода
Средства измерений, вспомогательные устройства	<ul style="list-style-type: none"> – Аналитические весы Shimadzu AUX220 1-го класса точности («Shimadzu», Япония); – Общелабораторный рН/мВ/°С метр «Эксперт-рН» (ООО «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ», Россия); – Электрод стеклянный комбинированный ЭСК-10603 (ООО «Измерительная техника», Россия); – Магнитная мешалка; – Дозатор типа ПЛ-01-200 с комплектом наконечников; – Дозатор типа ПЛ-01-1000 с комплектом наконечников.

Продолжение таблицы 8

<p>Реактивы и материалы</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Стандартные образцы соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов; – Буферные растворы с рН 9,18, 6,86 и 1,65, изготовленные согласно ТУ 2642-072-56278322-2009.; – Этанол 95% (ООО СБИО Россия) – Спиртовой раствор гидроксид калия 0,1 моль/дм³; – Хлороводородная кислота 0,1 моль/дм³, растворенная в ДМФА; – Спиртовой раствор фенолфталеина; – Спиртовой раствор метлового-оранжевого; – Водный раствор хлорида калия 3 моль/дм³ и 0,1 моль/дм³; – Янтарная кислота 0,05 моль/дм³, растворенная в метаноле; – вода деионизованная, полученная на установке ДВС-М/1НА(18)-N «Медиана фильтр»;
<p>Подготовка электрохимической ячейки и ЭСК-10603 к выполнению измерений</p>	<p>Электролизер и электрод перед анализом и после проведения анализа ополаскивают деионизированной водой.</p> <p>Перед анализом электрод заполняют электролитом – перхлоратом лития 3 моль/дм³ и калибруют по трем буферным растворам с рН 9,18, 6,86 и 1,65.</p>

Продолжение таблицы 8

<p>Введение поправки</p>	<p>Перед началом измерения потенциала необходимо введение поправки. Для этого необходимо измерить потенциал хлороводородной кислоты 0,1 моль/дм³. Перед измерением потенциала HCl необходимо уточнить ее реальную концентрацию. Для этого ячейку добавляют 3 см³ раствора хлороводородной кислоты, пару капель метилового-оранжевого и титруют стандартизированным раствором гидроксида натрия 0,1 моль/дм³. Концентрацию HCl рассчитывается, исходя из закона эквивалентов (формула 15)</p> $C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} = C_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{HCl}}, \quad (15)$ <p>где C_{NaOH} – концентрация гидроксида натрия, моль/дм³; V_{NaOH} – объем гидроксида натрия, затраченный на титрование, см³; C_{HCl} – концентрация хлороводородной кислоты, моль/дм³; V_{HCl} – объем раствора хлороводородной кислоты, см³.</p> <p>Гидроксид натрия стандартизируют по навеске янтарной кислоты. В ячейку добавляют 3 см³ раствора янтарной кислоты, пару капель фенолфталеина и титруют раствором гидроксида 0,1 моль/дм³. Концентрацию NaOH рассчитывают исходя из формул 16 и 17.</p> $C_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4} = \frac{m_{\text{навески}}}{V_{\text{м.к.}} \cdot M_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}} \cdot 10^3, \quad (16)$ <p>где $m_{\text{навески}}$ – масса навески янтарной кислоты, г; $V_{\text{м.к.}}$ – объем мерной колбы, в которой растворили навеску, см³; $M_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}$ – молярная масса эквивалента янтарной кислоты, г/моль.</p> $C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} = C_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4} \cdot V_{\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}, \quad (17)$ <p>где C_{NaOH} – концентрация гидроксида натрия, моль/дм³; V_{NaOH} – объем гидроксида натрия, затраченный на титрование, см³; $C_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}$ – концентрация янтарной кислоты, рассчитанная по формуле 11, моль/дм³; $V_{\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}$ – объем раствора янтарной кислоты, см³.</p>
--------------------------	---

Продолжение таблицы 8

Подготовка стандартных образцов к анализу	Заранее рассчитанную и взвешенную навеску стандартного образца количественно переносят в пробирку и доводят объем раствора до 4 см ³ смесью этанола и воды (50 : 50 % об.) и тщательно перемешивают с использованием магнитной мешалки. Приготовление происходит непосредственно в электролизере. Концентрация СО должна составлять 0,1 моль/дм ³
Выполнение измерений	В электролизере заранее растворяют навеску СО определяемого вещества в смеси этанола и воды (50 : 50 % об.), добавляют примерно 0,1 см ³ электролита – хлорида калия 0,1 моль/дм ³ и перемешивают раствор примерно в течение 30 с. Затем опускают в электролизер рабочий электрод и термопару. Регистрируют потенциал до добавления титранта и титруют раствор спиртовым раствором гидроксида калия 0,1 моль/дм ³ , стандартизация которого проводилась аналогично NaOH. Затем строится зависимость $E = f(V)$. Операцию повторяют 3 раза. После каждого измерения ячейку промывают деионизированной водой.
Вычисление результатов анализа	<p>рКа определяемого вещества определяют по формуле 18:</p> $pK_a = 2 \cdot pH + \lg C_{\text{опр.в-ва}}, \quad (18)$ <p>где $C_{\text{опр.в-ва}}$ – концентрация определяемого вещества.</p> <p>рН в точке эквивалентности рассчитывают следующим образом:</p> $pH = \frac{E_a^{o'} - E_{\text{т.э.}}}{59,16}, \quad (19)$ <p>где $E_a^{o'}$ – удельная постоянная элемента в кислой области (E_{HCl}), мВ; E – потенциал в точке эквивалентности, мВ.</p>

3.4 Разработка алгоритма определения рКа нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов спектрофотометрическим методом анализа в смешанной среде

На основании проведенных исследований по подбору рабочих условий для определению рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов методом спектрофотометрического

анализа в смешанной среде был разработан алгоритм анализа, представленный в виде протокола (таблица 9).

Таблица 9 – Протокол спектрофотометрического определения в смешанной среде

Алгоритм проведения определения рКа нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов спектрофотометрическим методом анализа в смешанной среде	
Алгоритм измерения	Алгоритм предназначен для определения рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов. Определение проводят методом спектрофотометрического анализа на спектрофотометре ПЭ-5400УФ
Средства измерений, вспомогательные устройства	<ul style="list-style-type: none"> – Аналитические весы Shimadzu AUX220 1-го класса точности («Shimadzu», Япония); – Спектрофотометр ПЭ-5400УФ (ООО «ЭКРОСХИМ», Россия); – Общелабораторный рН/мВ/°С метр «Эксперт-рН» (ООО «ЭКОНИКС-ЭКСПЕРТ», Россия); – Электрод стеклянный комбинированный ЭСК-10603 (ООО «Измерительная техника», Россия); – Магнитная мешалка; – Дозатор типа ПЛ-01-200 с комплектом наконечников; – Дозатор типа ПЛ-01-1000 с комплектом наконечников. – Набор стеклянных кювет в количестве 4 шт.

Продолжение таблицы 9

<p>Реактивы и материалы</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Стандартные образцы соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов и нитротриазоло[1,5-а]пиримидинов; – ТРИС-буфер (рН $7 \pm 0,2$), приготовленный растворением навески ТРИС-буфера в деионизованной водой и доведенный до необходимого рН раствором хлороводородной кислоты 1 моль/дм³; – Буферные растворы с рН 9,18, 6,86 и 1,65, изготовленные согласно ТУ 2642-072-56278322-2009; – Этанол 95% (ООО СБИО Россия) – Спиртовой раствор гидроксид калия 0,1 моль/дм³; – Хлороводородная кислота 0,1 моль/дм³, растворенная в ДМФА; – Спиртовой раствор фенолфталеина; – Спиртовой раствор метлового-оранжевого; – Водный раствор хлорида калия 3 моль/дм³ и 0,1 моль/дм³; – Янтарная кислота 0,05 моль/дм³, растворенная в метаноле; – Этанол 95% (ООО СБИО Россия); – Водный раствор хлороводородной кислоты 1 моль/дм³; – Вода деионизованная, полученная на установке ДВС-М/1НА(18)-N «Медиана фильтр»;
<p>Подготовка электрохимической ячейки и ЭСК-10603 к выполнению измерений</p>	<p>Электролизер и электрод перед анализом и после проведения анализа ополаскивают деионизированной водой. Перед анализом электрод заполняют электролитом – хлорид калия 3 моль/дм³ и калибруют по трем буферным растворам с рН 9,18, 6,86, 1.65.</p>

Продолжение таблицы 9

<p>Введение поправки</p>	<p>Перед началом измерения потенциала необходимо введение поправки. Для этого необходимо измерить потенциал хлороводородной кислоты 0,1 моль/дм³. Перед измерением потенциала HCl необходимо уточнить ее реальную концентрацию. Для этого ячейку добавляют 3 см³ раствора хлороводородной кислоты, пару капель метилового-оранжевого и титруют стандартизированным раствором гидроксида натрия 0,1 моль/дм³. Концентрацию HCl рассчитывают исходя из закона эквивалентов (формула 20)</p> $C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} = C_{\text{HCl}} \cdot V_{\text{HCl}}, \quad (20)$ <p>где C_{NaOH} – концентрация гидроксида натрия, моль/дм³; V_{NaOH} – объем гидроксида натрия, затраченный на титрование, см³; C_{HCl} – концентрация хлороводородной кислоты, моль/дм³; V_{HCl} – объем раствора хлороводородной кислоты, см³.</p> <p>Гидроксид натрия стандартизируют по навеске янтарной кислоты. В ячейку добавляют 3 см³ раствора янтарной кислоты, пару капель фенолфталеина и титруют раствором гидроксида 0,1 моль/дм³. Концентрацию NaOH рассчитывают исходя из формул 21 и 22.</p> $C_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4} = \frac{m_{\text{навески}}}{V_{\text{м.к.}} \cdot M_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}} \cdot 10^3, \quad (21)$ <p>где $m_{\text{навески}}$ – масса навески янтарной кислоты, г; $V_{\text{м.к.}}$ – объем мерной колбы, в которой растворили навеску, см³; $M_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}$ – молярная масса эквивалента янтарной кислоты, г/моль.</p> $C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} = C_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4} \cdot V_{\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}, \quad (22)$ <p>где C_{NaOH} – концентрация гидроксида натрия, моль/дм³; V_{NaOH} – объем гидроксида натрия, затраченный на титрование, см³; $C_{1/2\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}$ – концентрация янтарной кислоты, рассчитанная по формуле 11, моль/дм³; $V_{\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4}$ – объем раствора янтарной кислоты, см³.</p>
--------------------------	--

Продолжение таблицы 9

<p>Подготовка стандартно-го образца к анализу</p>	<p>Заранее рассчитанную и взвешенную навеску стандартного образца количественно переносят в полимерную пробирку и доводят объем раствора до 5-7 см³ смесью этанола и ТРИС-буфера (50 : 50 % об.) и тщательно перемешивают с использованием магнитной мешалки. Концентрация СО должна составлять 0,1 моль/дм³</p>
<p>Измерение рН раствора стандартно-го образца</p>	<p>В полимерную пробирку опускают рабочий электрод и термопару. Регистрируют потенциал системы. После каждого измерения ячейку промывают деионизированной водой. рН системы рассчитывают следующим образом:</p> $pH = \frac{E_a^{\circ'} - E_{т.э.}}{59,16}, \quad (23)$ <p>где $E_a^{\circ'}$ – удельная постоянная элемента в кислой области (E_{HCl}), мВ; E – потенциал в точке эквивалентности, мВ.</p>
<p>Выполнение измерений</p>	<p>Раствор СО переносят в стеклянную кювету и ставят её в кюветное отделение спектрофотометра. Измеряется A определяемого раствора в диапазоне длин волн от 350 до 600 нм с шагом 10 нм. После примерного определения диапазона длин волн, в котором находится максимум поглощения определяемого вещества, проводят повторные определения в данном диапазоне с шагом 1 нм. По полученным данным строят график зависимости $A = (\lambda)$.</p>
<p>Вычисление результатов анализа</p>	<p>pK_a определяемого вещества определяют по формуле:</p> $pK_a = pH + \lg \frac{(A_A - A)}{(A - A_{HA})}, \quad (24)$ <p>где pH – водородный показатель определяемого раствора в нейтральной среде; A_A – оптическая плотность определяемого раствора в щелочной среде; A_{HA} – оптическая плотность определяемого раствора в кислой среде; A – оптическая плотность определяемого раствора в нейтральной среде.</p>

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведения исследований были решены все поставленные задачи, для осуществления выбранной цели. Полученные результаты приведены в тексте работы.

Практическая значимость работы: Разработаны алгоритмы определения рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов методами потенциометрического титрования и спектрофотометрического анализа в апротонных и смешанных средах. Алгоритмы могут быть использованы в дальнейших исследованиях рКа соединений из данного ряда и их структурных аналогов.

Из литературных данных подобраны условия методик экспериментов для достижения стабильных и воспроизводимых данных по определению рКа соединений из ряда нитротриазоло[5,1-с][1,2,4]триазинов методами потенциометрического титрования и спектрофотометрического анализа в апротонных и смешанных средах.

Для апротонной среды в качестве титранта выбран спиртовой раствор NaOH 0,1 моль/дм³, а в качестве апротонного растворителя ДМФА. Концентрация определяемого вещества 0,1 моль/дм³.

Для смешанной среде в качестве титранта использовался спиртовой раствор КОН 0,1 моль/дм³, а в качестве смешанного растворителя смесь этанола и воды (50 : 50 % об.). Концентрация определяемого вещества 0,1 моль/дм³.

Рабочие условия для спектрофотометрического определения рКа: смешанный растворитель – смесь этанола и ТРИС-буфера (50 : 50 % об.), концентрация определяемого вещества – 10⁻⁵ моль/дм³.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лекарственные средства / [Электронный ресурс] // Всемирная организация здравоохранения : [сайт]. — URL: https://www.who.int/ru/health-topics/medicines#tab=tab_1 (дата обращения: 27.05.2024).
2. Сабитов, А. У., Сорокин, П. В., Дашутина, С. Ю. Опыт профилактического применения препарата Риамилловир в очагах коронавирусной инфекции (COVID-19) [Текст] / А. У. Сабитов, П. В. Сорокин, С. Ю. Дашутина // Терапевтический архив. — 2021. — № 93 (4). — С. 435-439.
3. ПОЧЕМУ В 2021 ГОДУ ВРАЧИ НАЗНАЧАЮТ ТРИАЗАВИРИН ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГРИППА НА ФОНЕ ПАНДЕМИИ COVID-19? / [Электронный ресурс] // Антибиотики и Химиотерапия : [сайт]. — URL: <https://www.antibiotics-chemotherapy.ru/jour/announcement/view/511> (дата обращения: 30.04.2024).
4. Киселев Олег Иванович, Деева Э. Г., Мельникова Т. И., Козелецкая К. Н., Киселев А. С., Русинов В. Л., Чарушин В. Н., Чупахин О. Н. Новый противовирусный препарат Триазавирин. Результаты II фазы клинического исследования // Вопросы вирусологии. 2012. №6. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/novyy-protivovirusnyy-preparat-triazavirin-rezultaty-ii-fazy-klinicheskogo-issledovaniya> (дата обращения: 05.05.2024).
5. Kedderis, G. L. The metabolic activation of nitroheterocyclictherapeuticagents [текст] / G. L. Kedderis, G. T. Miwa // Drug metabolismreviews. —1988.—V.19. — Is. 1. — P. 33-62. 29. Wardman, P. Application of pulse radiolysis methods tostudythereactions and structure of biomolecules [текст] / P. Wardman //ReportsonProgressin Physics. — 1978. — V. 41. — Is. 2. — P. 259-271.
6. Wardman, P. Electron transfer and oxidative stress as keyfactorsinthedesign of drugs selectively active in hypoxia [текст] / P. Wardman//Currentmedicinal chemistry. — 2001. — V. 8. — Is. 7. — P. 739-761.

7. Viodé, C. Enzymatic reduction studies of nitroheterocycles / C. Viodé, N. Bettache, N. Cenas [et. al.] // Biochemical pharmacology. – 1999. – V. 57. – Is. 5. – P. 549 – 557

8. Ивойлова А. В. Вольтамперометрическое определение противовирусных средств: Триазавирин® и Триазид. Механизмы их электропревращений : диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук : 1.4.2 / А. В. Ивойлова ; [Место защиты: Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина]. — Екатеринбург, 2022. — 161 с. — Библиогр.: с. 130-161 (277 назв.).

9. Ivoilova, A. V., Mikhal'chenko, L. V., Tsmokalyuk, A. N., Kozitsina, A. N., Ivanova, A. V., & Rusinov, V. L. (2021). Redox conversions of new antiviral drug Triazavirin®: electrochemical study and ESR spectroscopy. Russian Chemical Bulletin, 70(6), 1099–1108.

10. Бессолицына Е. А. . Физиология человека и животных конспект лекций модуль 4 «Физиология внутренней среды»: учебно-методическое пособие [Текст] / Бессолицына Е. А. — Киров: ФГБОУ ВПО «ВятГУ», 2011 — 182 с.

11. И. Денеш ТИТРОВАНИЕ В НЕВОДНЫХ СРЕДАХ. [Текст] / И. Денеш — МОСКВА: ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР», 1971 — 402 с.

12. Т.Р. Усачева, И.А. Кузьмина, Д.Н. Кабиров Потенциометрический и калориметрический методы исследования процессов комплексообразования и сольватации в неводных средах: учеб. пособие [Текст] / Т.Р. Усачева, И.А. Кузьмина, Д.Н. Кабиров — Иваново: Иван. гос. хим.-технол. ун-т, 2019 — 85 с.

13. Потенциометрическое титрование // КОМПАНИЯ «АВРОРА» URL: <https://electrochemistry.ru/methods/titrimetriceskiy-analiz/potentsiometriceskoe-titrovanie/> (дата обращения: 25.05.2024).

14. Kamal Shah CONDUCTOMETRY: Definition, Principle, Theory and MCQ for GPAT, GATE and CSIR NET JRF / Kamal Shah [Электронный ресурс] // PHARMACOPHORE EDULABS INDIA : [сайт]. — URL:

<https://gpatindia.com/conductometry-definition-principletheory-and-mcq-for-gpat-gate-and-csir-net-jrf/> (дата обращения: 20.05.2024).

15. Potentiometric Titration – Principle, Formula, Procedure, Types and Application, Sri Chaitanya Educational Institutions, Copyright © 2024

16. Ю. Д. Лантух, С. Н. Пашкевич, Д. А. Раздобреев Оптика : методические указания к лабораторному практикуму [Текст] / Ю. Д. Лантух, С. Н. Пашкевич, Д. А. Раздобреев — Оренбург: Оренбургский гос. ун-т, 2013 — 101 с.

17. А. П. Крешков, Л. Н. Быкова, Н. А. Казарян Кислотно-основное титрование в неводных растворах : [учеб. пособие для студентов и аспирантов хим. и хим.-технол. специальностей вузов] / А. П. Крешков, Л. Н. Быкова, Н. А. Казарян — Москва: Химия, 1963 — 192 с.

18. Кислотно-основное неводное титрование / [Электронный ресурс] // Рефераты, курсовые и дипломные работы : [сайт]. — URL: <http://www.newreferat.com/ref-4976-3.html> (дата обращения: 29.05.2024).

19. Chmurzyński, L., Wawrzynów, A., & Pawlak, Z. (1990). Ionic equilibria of pyridine N-oxide perchlorates in acetonitrile. *Electrochimica Acta*, 35(3), 665–671

20. Chmurzyński, L., Wawrzynów, A., & Pawlak, Z. (1989). Ionic equilibria in acetonitrile solutions of 2-, 3- and 4-picoline N-oxide perchlorates, studied by potentiometry and conductometry. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, 85(12), 4269-4276

21. Gurzyński, Łukasz & Puszko, Aniela & Chmurzyński, Lech. (2007). Basicity comparison for di-substituted 4-nitropyridine derivatives in polar non-aqueous media. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 39. 1667-1674.

22. Augustin-Nowacka, D., Makowski, M., & Chmurzynski, L. (2000). Acid–base equilibria in systems involving substituted pyridines in polar aprotic protophobic media and in the amphiprotic methanol. *Analytica Chimica Acta*, 418(2), 233–240.

23. Gurzyński, Ł., Puszko, A., Makowski, M., & Chmurzyński, L. (2007). Experimental and theoretical studies of solvent effects on the hydrogen bonds in

homoconjugated cations of substituted 4-halo (Cl,Br) pyridine N-oxide derivatives. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 39(9), 1272–1278.

24. Gurzyński, Ł., Puszko, A., Makowski, M., Makowska, J., & Chmurzyński, L. (2006). Potentiometric and ab initio studies of acid–base interactions of substituted 4-halo(Cl,Br)pyridine N-oxide systems. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 38(12), 1584–1591.

25. ОФС.1.2.3.0014.15. Общая фармакопейная статья. Кислотно-основное титрование в неводных средах / утв. и введена в действие Приказом Минздрава России от 31.10.2018 N 749 // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том I.

26. Баллинджер П., Лонг Ф.А. (1960). "Константы ионизации спиртов. II. Кислотность некоторых замещенных метанолов и родственных соединений". *Журнал Американского химического общества*. 82 (4): 795–798

27. Свойства вещества: вода / [Электронный ресурс] // Химия и токсикология : [сайт]. — URL: <https://chemister.ru/Databases/Chemdatabase/properties.php?dbid=1&id=1> (дата обращения: 30.04.2024).

28. Понизовский, М. Г., Русинова, Л. И. Конспекты лекций [учеб. пособие] / М. Г. Понизовский, Л. И. Русинова — Екатеринбург: Уральский государственный технический университет – УПИ, 2007 — 16 с.

29. Ivanov, P. & Pojarlieff, Ivan & Simova, Svetlana & Velinov, G. (2014). Interaction between charged groups. pK-values and conformations of the diastereomers of 3-amino-2,3-diphenylpropanoic acids and their ester and N-acetyl derivatives. *Izvestiya po Khimiya Bulgarska Akademiya na Naukite*. 46. 9-15.

30. Лабораторная работа «Определение константы кислотной диссоциации тимолового синего (тимолсульфофталеина)»

31. Mongay, C. & Cerdà, Víctor. (1974). A Britton-Robinson buffer of known ionic strength. *Ann. Chim.*. 64. 409-412.

32. Джулиус Стивенс Полное руководство по фосфатному буферу для научных исследований / Джулиус Стивенс [Электронный ресурс] // DHgate.com : [сайт]. — URL: <https://www.dhgate.com/ru/blog/the-ultimate-guide-to-phosphate-buffer-for-scientific-research-b/> (дата обращения: 22.05.2024).

33. BNO Team Приготовление буфера с различным pH / BNO Team [Электронный ресурс] // Biology Notes Online : [сайт]. — URL: https://biologynotesonline.com/ru/preparation-of-different-ph-buffer/#Acetate_Buffer_01_M_pH_50_Preparation (дата обращения: 22.05.2024).

34. ОФС.1.3.0003.15. Общая фармакопейная статья. Буферные растворы / Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание. Том I.

35. Mozharovskaia, P. N. ; Ivoilova, A. V. ; Drokin, R. A. и др. / THE ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR'S CHARACTER OF A POTENTIAL ANTIVIRAL DRUG 3-NITRO-4-HYDROXY-7-METHYLTHTIO-4H-[1,2,4]TRIAZOLO[5,1-c][1,2,4]TRIAZINIDE MONOHYDRATE. в: *Chimica Techno Acta*. 2022 ; Том 9, № 4.

36. Л.Г. Егорова, А.Ю. Петров, В.Л. Русинов NH-КИСЛОТНОСТЬ 7-ОКСО-4,7-ДИГИДРОПИРАЗОЛО- И 1,2,4-ТРИАЗОЛО[5,1-с][1,2,4]ТРИАЗИНОВ, *Химия гетероциклических соединений*, 1984, № 5, стр. 697-699.

37. Н. Я. Лиля, П.Н. Можаровская, А. В. Ивойлова, А. Н. Козицина, А. В. Иванова, В. Л. Русинов ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОЙ КОНСТАНТЫ ДИССОЦИАЦИИ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ РЯДА АЗОЛОАЗИНОВ, *Проблемы теоретической и экспериментальной химии : тез. докл. XXXIII Рос. молодеж. науч. конф. с международ. участием, посвящ. 100-летию со дня рожд. проф. В. Ф. Барковского, Екатеринбург, 24–27 апр. 2023 г. / Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, Уральский федеральный университет. – Екатеринбург : Издво Урал. ун-та, 2023. – 525 с. : ил. – ISBN 978-5-7996-3703-3. – Текст : электронный*