

На правах рукописи



Вишенкова Дарья Александровна

**ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕПАРИНА В
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЯДА
СИНТЕТИЧЕСКИХ КАТИОННЫХ КРАСИТЕЛЕЙ**

02.00.02 – Аналитическая химия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Томск-2018

Работа выполнена в Отделении химической инженерии Инженерной школы природных ресурсов федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель: доктор химических наук, доцент, **Короткова Елена Ивановна**

Официальные оппоненты: **Будников Герман Константинович**
доктор химических наук, профессор,
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Химический институт им. А.М. Бутлерова, кафедра аналитической химии, профессор

Шелковников Владимир Витальевич
кандидат химических наук, доцент,
Национальный исследовательский Томский государственный университет, кафедра аналитической химии, доцент

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет» (г. Екатеринбург).

Защита состоится 31 октября 2018 г. в 14:30 на заседании диссертационного совета Д.212.269.04 при ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634050, г. Томск пр. Ленина, 43а, 2-й корпус ТПУ, малая химическая аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в Научно-технической библиотеке ФГАОУ ВО НИ ТПУ по адресу: 634050, г. Томск, ул. Белинского, 55 и на сайте <http://portal.tpu.ru/council/911/worklist>

Автореферат разослан

« » сентября 2018 г.

И.О. Ученого секретаря
диссертационного совета
Д.212.269.04



Г.Б. Слепченко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Гепарин является основным представителем антикоагулянтов прямого действия. Применяют его не только с целью предупреждения и лечения тромбозомболических заболеваний, а также при использовании аппаратов искусственного кровообращения, в лабораторной практике для предотвращения свертывания проб крови, и в качестве противовоспалительного и противотромботического средства локально в виде мазей. Гепарину также присущ ряд отрицательных свойств, таких как тромбоцитопения и аллергические реакции немедленного типа (крапивница, ангионевротический отёк или бронхоспазм), а при передозировке – возможность развития геморрагии. На сегодняшний день широко обсуждается вопрос о качестве лекарственных препаратов, необходимости его обеспечения и строгого контроля. Результаты измерений гепарина в субстанциях, полупродуктах и целевых лекарственных средствах позволяют обеспечить продуктивность производства и в дальнейшем дают возможность предлагать клинике качественные и безопасные препараты. Однако количественное определение гепарина представляется сложной задачей из-за неоднородности размера молекулы полимера и распределения в ней заряда.

В настоящее время для определения гепарина чаще всего применяют спектрофотометрический метод, с использованием синтетических хромогенных субстратов специального состава. Несмотря на широкое применение данного метода, с аналитической точки зрения он является косвенным и даёт результаты, необязательно соответствующие общему количеству гепарина.

Таким образом, существует необходимость разработки специфических методов определения гепарина. Для решения этой задачи целесообразно использовать электрохимические методы анализа, которым характерны высокая чувствительность и селективность, быстрота отклика на изменение состава анализируемого объекта, легкость автоматизации и, наконец, невысокая стоимость аналитического оборудования.

За последние два десятилетия основное внимание в литературе по определению гепарина в различных объектах с использованием электрохимических методов анализа уделено исследованию комплексов гепарина с низко- и высокомолекулярными соединениями с целью их последующего аналитического применения.

Большой интерес с научной и прикладной точек зрения представляют комплексы гепарина с красителями катионной природы, которые образуются при их взаимодействии с отрицательно заряженными полимерными цепями полисахарида. Перспективность использования именно синтетических красителей среди широкого круга органических модификаторов, применяемых в электроаналитической химии, заключается в их легкодоступности, распространенности (ежегодно их выпускается около 10000 видов) и наличии нуклеофильных и электрофильных групп, способных к электроокислению и восстановлению.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлось изучение электрохимического поведения гепарина в комплексе с синтетическими катионными красителями различных классов и разработка методики его количественного определения в лекарственных препаратах в форме инъекций.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

– изучить электрохимические свойства ряда синтетических катионных красителей (метиленового голубого, малахитового зеленого и толуиленового синего), относящихся к различным классам (тиазинового, трифенилметанового и индаминового) и выбрать рабочие условия для вольтамперометрического определения гепарина в комплексе с ними;

– исследовать физико-химические закономерности электрохимического поведения комплексов «гепарин-краситель» и оценить их адсорбционную способность;

– исследовать влияние гепарина на ток электровосстановления кислорода и провести оценку его антиоксидантных свойств;

– разработать методику количественного вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием толуиленового синего и рассчитать основные метрологические характеристики.

Научная новизна.

Получена новая информация о электрохимических свойствах метиленового голубого и малахитового зеленого на различных материалах индикаторных электродов (стеклоуглеродный (СУЭ), ртутно-пленочный (РПЭ), углеродсодержащий, модифицированный углеродными чернилами (МЭ) электроды). Исследованы свойства комплексов гепарин–метиленовый голубой на СУЭ, гепарин–малахитовый зеленый на РПЭ.

Впервые методом циклической вольтамперометрии изучены электрохимические свойства толуиленового синего на МЭ и предложены возможные механизмы протекания редокс-процессов. Исследованы свойства комплекса гепарин–толуиленовый синий и установлено, что для вольтамперометрического определения гепарина наиболее рационально его использование.

Проведено исследование антиоксидантной активности гепарина методом катодной вольтамперометрии по отношению к процессу электровосстановления кислорода. Показано, что антиоксидантные свойства наиболее выражены у высокомолекулярного гепарина.

Предложен новый подход для вольтамперометрического определения гепарина, заключающийся в использовании красителя индаминового класса – толуиленового синего на МЭ и позволяющий проводить анализ лекарственных препаратов без предварительной пробоподготовки, при условии отсутствия посторонних примесей в анализируемых образцах (дерматан сульфата и гиперсульфатированного хондроитин сульфата), наличие которых можно выявить методом капиллярного электрофореза.

Практическая значимость.

Разработана методика количественного определения гепарина в лекарственных препаратах методом вольтамперометрии на МЭ с использованием толуиленового синего и установлены ее основные метрологические характеристики. Вольтамперометрическая методика не требует сложной пробоподготовки, позволяет исключить использование дорогостоящих реагентов и сократить время анализа по сравнению со спектрофотометрической методикой.

Разработанная методика может быть рекомендована к использованию в аналитических лабораториях фармацевтической промышленности для контроля содержания гепарина в сырье и готовых лекарственных препаратах в форме инъекций.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Результаты исследования электрохимических свойств метиленового голубого, малахитового зеленого и толуиленового синего в зависимости от ряда факторов (рН раствора, материал электрода, природа фонового электролита, скорость развертки потенциала);
2. Экспериментальные данные по исследованию электрохимического поведения и адсорбции комплексов «гепарин-краситель» на поверхности индикаторных электродов;
3. Рабочие условия количественного вольтамперометрического определения гепарина с использованием красителей;
4. Результаты исследования антиоксидантной активности гепарина методом катодной вольтамперометрии по отношению к процессу электровосстановления кислорода;
5. Методика количественного вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием толуиленового синего и результаты ее метрологической оценки.

Апробация работы. Основные результаты диссертации докладывались и обсуждались на III Международной научно-технической конференции молодых учёных, аспирантов и студентов «Высокие технологии в современной науке и технике» (Томск, 2014); XV Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулёва студентов и молодых учёных «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2014); VI Международной научной конференции «Современные методы в теоретической и экспериментальной электрохимии» (Плёт, 2014); Международной научно-практической конференции «Интеграция науки, образования и производства – основа реализации Плана нации (Сагиновские чтения № 7)» (Караганда, Казахстан, 2015); XIX Международном симпозиуме имени академика М. А. Усова студентов и молодых ученых, посвященном 70-летию юбилею Победы советского народа над фашистской Германией (Томск, 2015); 54-й Международной научной студенческой конференции МНСК-2016 (Новосибирск, 2016); XVII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулева, посвященной 120-летию Томского политехнического университета «Химия и химическая технология в XXI веке»

(Томск, 2016); IX Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа с международным участием и молодежной научной школой «ЭМА-2016» (Екатеринбург, 2016); X Всероссийской научной конференции с международным участием «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Барнаул, 2016); XVI Международной научно-технической конференции с элементами школы молодых ученых «Наукоемкие химические технологии – 2016» (Москва, 2016); 55-ой Международной научной студенческой конференции «МНСК-2017» (Новосибирск, 2017); XVIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2017); 10th International Conference on "Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications" (Heraklion, Greece, 2017); 6th International Chemical Technology Conference (Mikulov, Czech Republic, 2018); XIX Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулёва «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2018).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 30 работ, в том числе 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК и 2 статьи в журналах, входящих в базы данных Web of Science и Scopus.

Личный вклад автора состоит в выполнении эксперимента, обработке, систематизации, интерпретации, обсуждении и обобщении полученных результатов.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю, д.х.н., профессору Коротковой Е.И. за постановку цели и помощь при написании диссертации. Особая благодарность д.х.н., профессору Г. Б. Слепченко, д.х.н., профессору Н. А. Колпаковой, д.х.н., профессору А. А. Бакибаеву, к.х.н., доценту Е. В. Дорожке за ценные советы и интерес к работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта РФФИ на 2014-2015 г. № 14-03-31562 мол_а (1.1259.С.2014); Государственного задания «Наука» № 4.1619.2014/к от 11.06.2014 на 2014-2017 г.; Государственного задания «Наука» № 4.5752.2017/БЧ на 2017-2019 г.; Фонда Михаила Прохорова договор № АМ–273/17 от 07.02.2018 г.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 146 страницах машинописного текста, содержит 45 рисунков, 34 таблицы, состоит из введения, пяти глав, заключения, списка цитируемой литературы, включающего 169 наименований, и четырех приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении раскрыта актуальность работы, определены цели и задачи исследования, сформулированы научная новизна, практическая значимость, полученных результатов, положения, выносимые на защиту, указано, где работа проходила апробацию.

Первая глава представляет собой обзор литературы по истории открытия гепарина, его строению и свойствам, методам количественного определения в различных объектах.

Во второй главе приведены основные методы и условия проведения экспериментов, материалы, реактивы и оборудование, используемые в исследовании.

В качестве объектов исследования, использовали фармакологические растворы гепарина для внутривенного и подкожного введения различных производителей.

Регистрацию вольтамперных кривых проводили на анализаторах ТА-2 и ТА-Lab (производство ООО «НПП «Томьаналит», г Томск). Определение гепарина выполняли методом вольтамперометрии с использованием синтетических катионных красителей различных классов («in situ»).

Антиоксидантную активность (АОА) гепарина определяли методом катодной вольтамперометрии по отношению к процессу электровосстановления кислорода (ЭВ O_2).

Методикой сравнения служила спектрофотометрическая методика с использованием хромогенных субстратов специального состава.

В третьей главе обсуждаются результаты исследований электрохимических свойств ряда синтетических катионных красителей различных классов (тиазинового, трифенилметанового, индаминового) и их комплексов с гепарином, на основании которых, выполняется выбор рабочих условий для вольтамперометрического определения гепарина.

Исследование электрохимических свойств синтетического красителя тиазинового класса – метиленового голубого (МГ) и его комплекса с гепарином. Для исследования электрохимических свойств метиленового голубого были записаны циклические вольтамперограммы на разных материалах электродов (РПЭ, СУЭ, МЭ) со скоростью развертки 40 мВ/с в фоновых электролитах с различным значением рН в диапазоне концентраций от 10 мг/дм³ до 40 мг/дм³. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Параметры вольтамперометрического определения МГ от 10-40 мг/дм³, полученные методом циклической постоянно-токовой вольтамперометрии с использованием различных материалов электродов

Материал индикаторного электрода	Фоновый электролит		Значение потенциала E, В		Уравнение регрессии по E _{п.а}	Квадрат коэф-фициента корреляции
	Состав	рН	E _{п.к.}	E _{п.а.}		
РПЭ	Оксалатный	1,65	-0,08	–	y=0,0119x+0,2832	0,9825
	Фосфатный	6,86	-0,19	-0,09	y=0,0267x+0,4331	0,995
	Боратный	9,18	-0,32	-0,19	y=0,0278x+1,0421	0,9873
СУЭ	Оксалатный	1,65	0,10	0,23	y=0,1691x-0,234	0,9924
	Фосфатный	6,86	-0,25	-0,16	y=0,443x+3,524	0,9959
	Боратный	9,18	-0,33	-0,24	y=0,4355x+6,9877	0,9998
МЭ	Оксалатный	1,65	0,11	0,17	y=0,0591x-0,1465	0,9968
	Фосфатный	6,86	-0,16	-0,13	y=0,1475x+0,476	0,9995
	Боратный	9,18	-0,28	-0,19	y=0,1748x+0,54	0,9953

Анализируя данные, представленные в таблице 1 можно сделать вывод, что наиболее подходящий материал электрода для последующих исследований, на котором протекают редокс-процессы МГ – СУЭ, ввиду большей чувствительности. Из таблицы 1 видно, что при изменении рН электролита от кислого к щелочному значению, наблюдается смещение потенциала пика в более электроотрицательную область, которое свидетельствует об участии протонов в электрохимической реакции.

При исследовании влияния скорости развертки потенциала на ток пика МГ в фоновых электролитах с рН от 1,65 до 7 по зависимостям $I_{п.а.}-W$ (отсутствие линейности), $\lg I_{п.а.}-\lg W$ (W -критерий $\leq 0,5$) выявлено отсутствие адсорбционной составляющей, а в щелочных средах происходит адсорбция красителя на поверхности электрода. Также было замечено, что значительное увеличение концентрации МГ (более 35 мг/дм^3) приводит к адсорбции лейко-формы красителя на поверхности электрода при любом значении рН фонового электролита с появлением предпика на вольтамперограмме.

Таким образом, по результатам изучения электрохимических свойств МГ, выявлено, что для работы с его сигналом и последующем применении для определения гепарина наиболее рационально использовать нетоксичный СУЭ, на поверхности которого в фоновом электролите с рН 6,86 редокс-процесс МГ предположительно протекает необратимо с участием двух электронов и протонов. Концентрация МГ должна быть не более 35 мг/дм^3 .

Исследование электрохимических свойств гепарина в комплексе с метиленовым голубым. Для изучения электрохимического поведения гепарина в комплексе с МГ проведен эксперимент в условиях постоянно-токовой вольтамперометрии на СУЭ в области потенциалов от 0,6 В до -0,65 В при скорости сканирования $W=40 \text{ мВ/с}$, фоновым электролитом служил фосфатный буферный раствор с рН 6,86. Получены циклические вольтамперные кривые и гепарина в комплексе с метиленовым голубым (Нер–МГ) на СУЭ (рисунок 1).

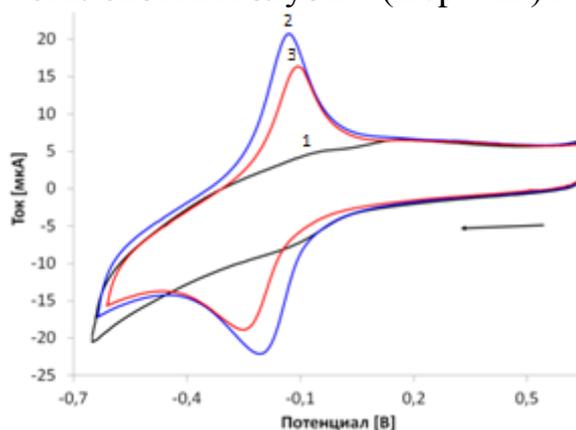


Рисунок 1 – Циклические вольтамперограммы МГ в отсутствии и присутствии гепарина на СУЭ:
1 – фоновая кривая, 2 – $C_{\text{МГ}} = 30 \text{ мг/дм}^3$; 3 – $C_{\text{Нер}} = 5 \text{ мг/дм}^3$. $W = 60 \text{ мВ/с}$, рН = 6,86

Согласно данным из рисунка 1 введение добавки гепарина приводит к уменьшению сигналов окисления-восстановления МГ и смещению их потенциалов. Подобное смещение можно объяснить связыванием гепарина с метиленовым голубым с образованием комплекса Нер–МГ.

В дальнейших исследованиях для определения гепарина в лекарственных препаратах методом вольтамперометрии с использованием МГ на СУЭ («in situ», $C_{MG}=30 \text{ мг/дм}^3$) рабочей областью потенциалов выбрана анодная от -0,6 В до 0,4 В, так как в катодной области имеет место мешающее влияние кислорода на сигнал гепарина в комплексе с МГ, удаление которого из системы приводит к увеличению времени анализа. По уменьшению тока пика электроокисления МГ со смещением потенциала, построена градуировочная зависимость тока пика электроокисления комплекса Нер-МГ от концентрации гепарина в диапазоне от 2 до 24 мг/дм³.

Исследование электрохимических свойств синтетического красителя трифенилметанового класса – малахитового зелёного (МЗ) и его комплекса с гепарином. Изначально электрохимические свойства МЗ изучались методом циклической вольтамперометрии с постоянно-токовой разверткой потенциала на разных материалах электродов (РПЭ, СУЭ, МЭ) со скоростью развертки 40 мВ/с в фоновых электролитах с различным значением рН в диапазоне концентраций от 10 мг/дм³ до 40 мг/дм³. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Параметры вольтамперометрического определения МЗ от 10-40 мг/дм³, полученные методом циклической постоянно-токовой вольтамперометрии с использованием различных материалов электродов

Материал индикаторного электрода	Фоновый электролит		Значение потенциала E, В		Уравнение регрессии по E _{п.к.}	Квадрат коэф-фициента корреляции
	Состав	рН	E _{п.к.}	E _{п.а.}		
РПЭ	Оксалатный	1,65	-0,47	-	$y=0,3015x-1,0333$	0,9961
	Фосфатный	6,86	-0,39	-	$y=0,1720x-0,5767$	0,9924
	Боратный	9,18	-0,29	-	$y=0,087x-0,011$	0,9929
СУЭ	Оксалатный	1,65	-0,39	-	$y=0,1872x-0,325$	0,9923
	Фосфатный	6,86	-0,21	-	$y=0,0996x-0,1167$	0,9939
	Боратный	9,18	-0,18	-	$y=0,0452x+0,003$	0,9958
МЭ	Оксалатный	1,65	-0,4	-	$y=0,0799x+0,4563$	0,9918
	Фосфатный	6,86	-0,19	-	$y=0,0345x+0,4003$	0,9952
	Боратный	9,18	-0,16	-	$y=0,0118x+0,0907$	0,9918

На основании данных представленных в таблице 2 можно сделать вывод, что наиболее подходящий материал электрода для последующих исследований, на котором протекают электрохимические процессы МЗ – РПЭ, ввиду большей чувствительности. Также сигнал электровосстановления МЗ, полученный на РПЭ более стабилен. При изменении рН фонового электролита наблюдается смещение потенциала пика МЗ в более отрицательную область. Наличие только пика электровосстановления МЗ позволяет предположить, что электрохимический процесс при выбранных условиях, вероятнее всего, носит необратимый характер.

Для изучения протекания механизма электроокисления-восстановления МЗ на РПЭ исследовали влияние скорости развертки потенциала на электрохимическое поведение МЗ. По результатам исследований построены следующие зависимости (рисунок 2):

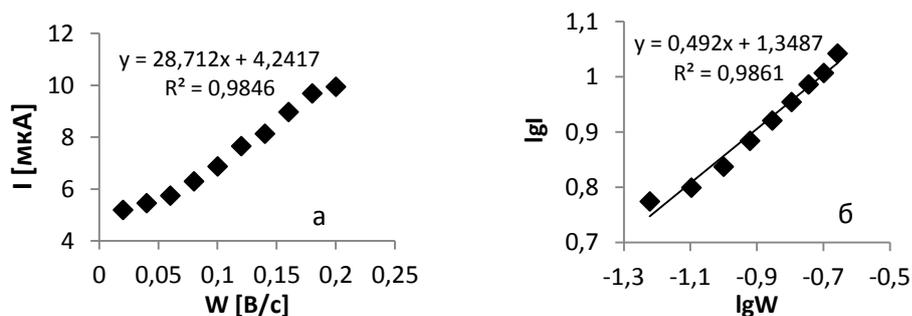
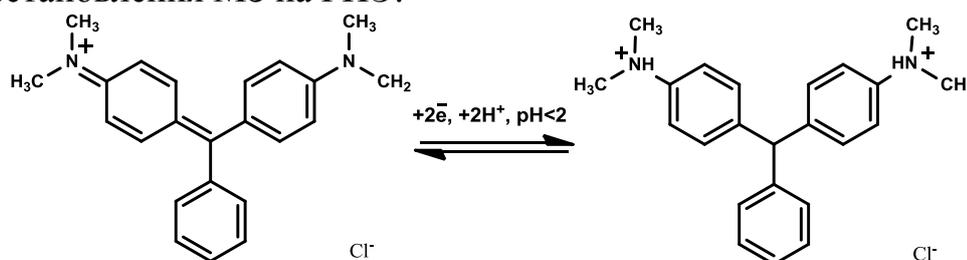


Рисунок 2 – Влияние скорости развертки потенциала на: а) потенциал пика электровосстановления МЗ; б, в) величину тока электровосстановления МЗ в простой и логарифмической форме соответственно

Изучая зависимости, представленные на рисунке 2, ввиду нелинейности $I_{п.к.}-W$ (рисунок 2 а) и значению углового коэффициента по критерию Семерано $\leq 0,5$ (рисунок 2 б), можно сделать вывод об отсутствии адсорбции МЗ на поверхности РПЭ в фоновом электролите с рН 1,65. Кроме того, значение критерия Семерано $\leq 0,5$, свидетельствует о том, что электровосстановление МЗ контролируется кинетикой электродного процесса.

Суммарный вероятный механизм протекания процесса электровосстановления МЗ на РПЭ:



Таким образом, были исследованы электрохимические свойства МЗ методом циклической и катодной постоянно-токовой вольтамперометрии, предложен вероятный механизм электровосстановления МЗ с участием двух электронов и двух протонов, подобраны рабочие условия для последующего вольтамперометрического определения гепарина: индикаторный РПЭ, оксалатный фоновый электролит с рН 1,65, рабочая область потенциалов от 0,0 до $-1,0$ В, концентрация красителя не должна превышать 35 мг/дм^3 .

Исследование электрохимических свойств гепарина в комплексе с малахитовым зеленым на РПЭ. При исследовании электрохимических свойств гепарина в комплексе с МЗ важным фактом оказалась последовательность введения гепарина в электрохимическую ячейку. На рисунке 3 представлены вольтамперограммы восстановления МЗ на РПЭ в комплексе с гепарином в зависимости от последовательности введения гепарина в исследуемую систему.

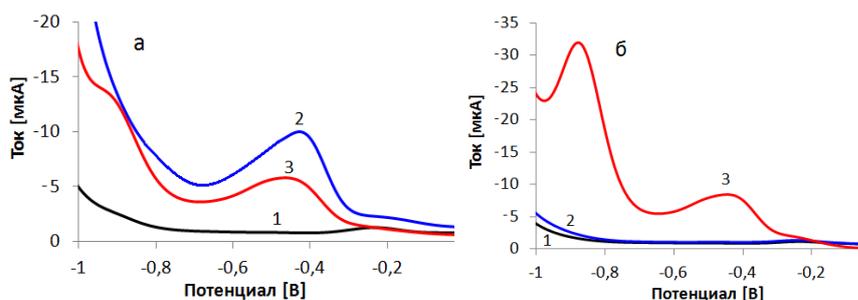


Рисунок 3 – Вольтамперные кривые электровосстановления МЗ на РПЭ в зависимости от последовательности введения гепарина в электрохимическую ячейку: а) гепарин вводился после добавления МЗ: 1 – фоновая кривая, 2 – $C_{M3} = 30 \text{ мг/дм}^3$, 3 – $C_{Hep} = 5 \text{ мг/дм}^3$; б) гепарин вводился до добавления МЗ: 1 – фоновая кривая, 2 – $C_{Hep} = 5 \text{ мг/дм}^3$, 3 – $C_{M3} = 30 \text{ мг/дм}^3$. $W = 40 \text{ мВ/с}$, $pH = 1,65$

На рисунке 3 (б) помимо сигнала электровосстановления красителя при $E = -0,46 \text{ В}$ появляется хорошо выраженный сигнал при $E = -0,87 \text{ В}$, тогда как на рисунке 3 (а) в этой области можно наблюдать небольшую волну. Сигнал при $E = -0,87 \text{ В}$ предположительно соответствует восстановлению комплекса $Hep-M3$, который формируется в кислой среде ($pH = 1,65$) после предварительной стадии гидролиза гепарина на поверхности РПЭ. Возможные продукты гидролиза гепарина (отрицательно заряженные частицы), вероятнее всего, связываются с положительно заряженными NH - группами МЗ, что приводит к образованию комплекса $Hep-M3$, который восстанавливается на РПЭ.

Для подтверждения наличия стадии образования комплекса $Hep-M3$ на РПЭ были записаны вольтамперограммы электровосстановления $Hep-M3$ в зависимости скорости развертки потенциала. При увеличении скорости развертки от 20 до 200 мВ/с потенциал комплекса $Hep-M3$ смещался в более отрицательную область, что свидетельствует о стадии формирования комплекса $Hep-M3$.

При изучении влияния скорости развертки на сигнал электровосстановления комплекса $Hep-M3$ выявлено наличие адсорбционной составляющей при любом значении pH фонового электролита, появление которой, как и в случае с МГ, предположительно связано с большим молекулярным весом гепарина. Для регистрации вольтамперограмм комплекса $Hep-M3$ выбрано значение скорости сканирования потенциала равное 60 мВ/с.

При подобранных условиях были записаны вольтамперограммы электровосстановления комплекса $Hep-M3$ в зависимости от концентрации гепарина в электрохимической ячейке (рисунок 4).

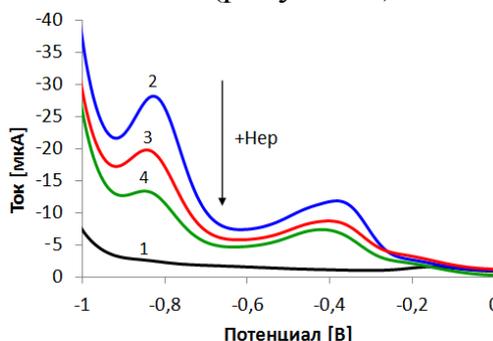


Рисунок 4 – Вольтамперные кривые электровосстановления комплекса $Hep-M3$ в зависимости от концентрации гепарина. 1 – фоновая кривая; 2, 3, 4 – 30 мг/дм^3 малахитового зеленого с гепарином 5, 10, 20 мг/дм^3 соответственно. РПЭ, $W = 60 \text{ мВ/с}$, $pH = 1,65$

С увеличением концентрации гепарина на вольтамперограмме наблюдается пропорциональное уменьшение интенсивности тока пика при $E = -0,87$ В. По уменьшению тока пика при $E = -0,87$ В была построена градуировочная зависимость для определения гепарина.

Исследование электрохимических свойств синтетического красителя индаминового класса – толуиленового синего (ТС) и его комплекса с гепарином. Изучение электрохимических свойств ТС методом вольтамперометрии ранее не проводилось, в связи с чем, исследование его электрохимического поведения представляет интерес с научной точки зрения. Изначально проводились исследования электрохимических свойств ТС методом циклической вольтамперометрии с постоянно-токовой разверткой потенциала на разных материалах электродов (РПЭ, СУЭ, МЭ) в фоновых электролитах с различным значением рН в диапазоне концентраций от 10 мг/дм³ до 40 мг/дм³. Вид полученных вольтамперных кривых позволил сделать вывод о многостадийности редокс-процессов ТС. На основании большей стабильности и линейности всех катодных и анодных пиков для исследования электрохимических свойств ТС выбран МЭ. На рисунке 5 приведена циклическая вольтамперная кривая ТС на МЭ в буферном растворе Бриттона-Робинсона с рН 2.

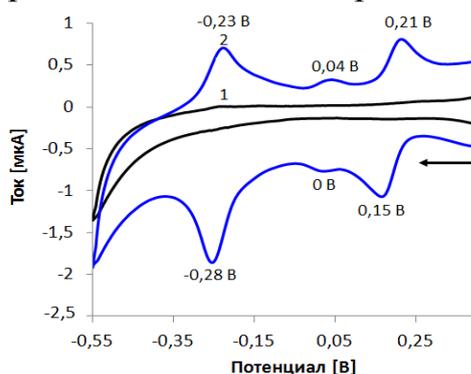


Рисунок 5 – Циклическая вольтамперная кривая ТС на МЭ в буферном растворе Бриттона-Робинсона с рН 2. 1 – фоновая кривая; 2 – $C_{ТС} = 5$ мг/дм³. $W = 40$ мВ/с

Известно, что ТС – неустойчивый краситель, и даже при комнатной температуре разлагается с образованием толуиленового красного (ТК). Согласно литературным данным можно предположить, что катодный и анодный пики при $-0,28$ и $-0,23$ В соответственно относятся к взаимным переходам окисленной и восстановленной форм ТК, протекающим в феназиновом фрагменте с участием двух электронов и двух протонов. Данное предположение также подтверждено экспериментально в результате записи циклических вольтамперных кривых раствора ТК.

Окислительно-восстановительная пара на вольтамперной кривой (рисунок 5) при 0,15 и 0,21 В, вероятнее всего, соответствуют редокс-процессам самого ТС. В процессе восстановления многих органических красителей образуются их лейко-формы. Если предположить, что из исходного ТС в водной среде образуется его лейко-форма, то в соответствии «предпики» на катодной и анодной кривых (рисунок 5) при 0 и 0,04 В, являются результатом адсорбции лейко-ТС. С целью подтверждения предположений о протекании процессов

окисления-восстановления ТС и адсорбции лейко-ТС и установления их механизмов, в работе выполнены исследования по влиянию рН среды, скорости сканирования потенциала и температуры на сигнал ТС.

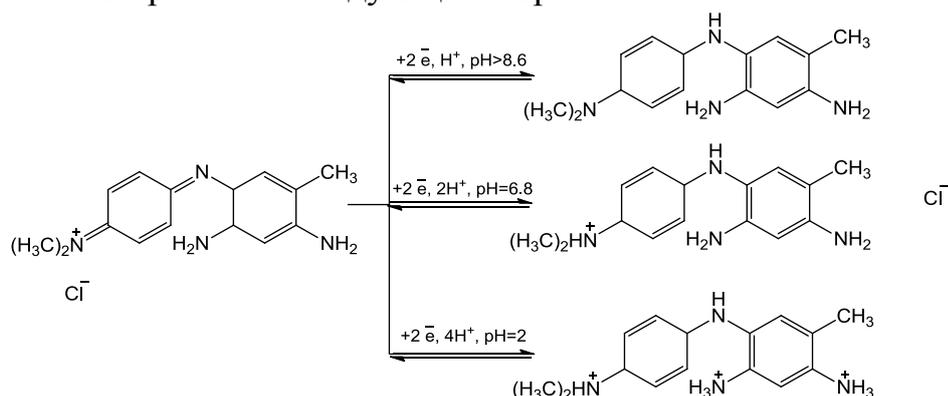
Помимо установления механизма протекания электродного процесса и числа электронов, метод циклической вольтамперометрии использовался для определения кинетических характеристик (константы скорости, обратимости процесса, адсорбционной составляющей). В таблице 3 представлены результаты циклической вольтамперометрии ТС на МЭ при рН=1,9 в зависимости от скорости сканирования потенциала.

Таблица 3 – Результаты циклической вольтамперометрии ТС ($C_{ТС} = 10 \text{ мг/дм}^3$) на МЭ при рН=1,9 в зависимости от скорости сканирования потенциала

W, В/сек	\sqrt{W}	$I_{п.к.}$, мкА	$I_{п.а.}$, мкА	$I_{п.к.}/I_{п.а.}$	$E_{п.а.}$, В	$E_{п.к.}$, В	$\Delta E_{п.}$, В
0,005	0,07	1,39	1,03	1,35	0,173	0,132	0,041
0,01	0,1	1,99	1,54	1,30	0,179	0,131	0,048
0,02	0,14	2,79	2,09	1,33	0,186	0,13	0,056
0,03	0,17	3,51	2,51	1,39	0,19	0,13	0,06
0,04	0,2	4,25	2,97	1,43	0,195	0,13	0,065
0,06	0,24	4,74	3,52	1,35	0,203	0,129	0,074
0,08	0,28	5,41	3,99	1,36	0,207	0,125	0,082
0,1	0,32	6,00	4,41	1,36	0,214	0,123	0,091
0,14	0,37	7,48	5,62	1,33	0,242	0,118	0,124
0,18	0,42	8,31	6,41	1,29	0,257	0,111	0,146
0,22	0,47	9,64	7,02	1,37	0,276	0,102	0,174
0,26	0,51	9,83	7,41	1,33	0,289	0,094	0,195

Из таблицы 3 видно, что увеличение скорости развертки приводит к: смещению $E_{п.к.}$ в катодную область потенциалов, $E_{п.а.}$ – в анодную; увеличению $\Delta E_{п.}$; линейной зависимости $I_{п.к.}$ и $I_{п.а.}$ от квадратного корня из скорости развертки потенциала, при этом значение $I_{п.к.}/I_{п.а.}$ больше 1 при любой скорости сканирования.

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что редокс-процесс ТС при данных условиях эксперимента, скорее всего, носит квазиобратимый характер – протекает со смешанным диффузионно-кинетическим контролем. Расчетное значение константы скорости k_s при скорости развертки потенциала 0,04 В/с получилось равным $2 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, а параметр Λ по Матсуда и Айябэ при такой константе составил 0,7. Рассчитанные по экспериментальным данным (таблица 3) величины Λ и k_s находятся в интервале значений, отвечающих квазиобратимому процессу. Суммарный механизм электродного процесса предположительно протекает следующим образом:



Предположительное наличие адсорбционной составляющей оценивали из зависимостей, изображенных на рисунке б, построенных с использованием экспериментальных данных (таблица 3).

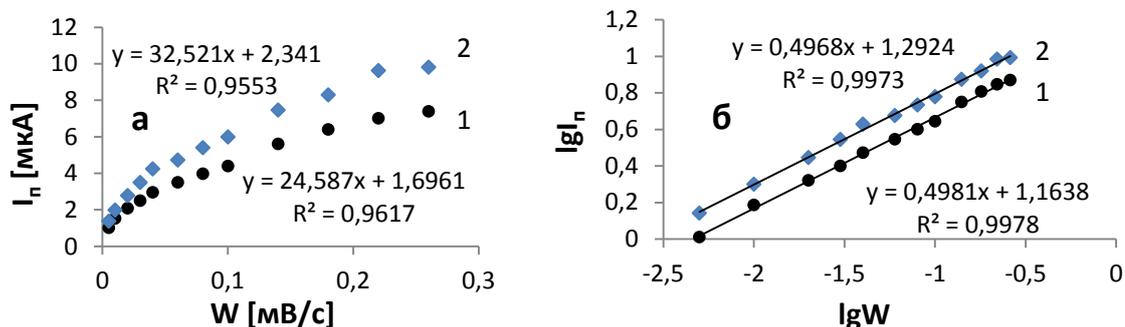


Рисунок 6 – Влияние скорости развертки потенциала на ток пика ТС: а) зависимость токов электроокисления (1) и электровосстановления (2) ТС от скорости сканирования потенциала; б) логарифмическая зависимость токов электроокисления (1) и электровосстановления (2) ТС от скорости сканирования потенциала (W -критерий Семерано). $C_{TC} = 10$ мг/дм³, МЭ, рН=1,9

Ввиду нелинейности I_p – W (рисунок 6 а) и значению углового коэффициента по критерию Семерано $\leq 0,5$ (рисунок 6 б), можно сделать вывод об отсутствии адсорбции ТС на поверхности МЭ в фоновом электролите с рН 1,9. Кроме того, значение критерия Семерано $\leq 0,5$, свидетельствует о том, что протекающий редокс-процесс ТС контролируется кинетикой электродного процесса. При исследовании влияния скорости развертки потенциала на токи пиков ТС в фоновых электролитах с нейтральным и щелочным значениями рН по зависимостям I_p – W , $\lg I_p$ – $\lg W$ выявлено наличие адсорбционной составляющей. Также было замечено, что значительное увеличение концентрации ТС (более 30 мг/дм³) приводит к адсорбции лейко-формы красителя на поверхности электрода при любом значении рН фонового электролита.

Для последующего применения ТС при определении гепарина, ввиду его неустойчивости, было принято решение путем доведения раствора красителя до кипения переводить его в ТК и лейко-форму.

Таким образом, были исследованы электрохимические свойства ТС методом циклической, катодной и анодной постоянно-токовой вольтамперометрии, предложен предположительный механизм квазиобратимого окисления-восстановления ТС с участием двух электронов и одного протона, показано, что ТС неустойчивое соединение, из которого образуется ТК и лейко-форма красителя, подобраны условия для работы с раствором ТС при последующем определении гепарина: индикаторный МЭ, фоновый электролит Бриттона-Робинсона с рН 1,9, скорость развертки потенциала 40 мВ/с, во избежание явления адсорбции красителя его концентрация не должна превышать 30 мг/дм³. Выявлено, что при нейтральных и щелочных значениях рН происходит адсорбция ТС и электрополимеризация образующегося из него ТК на поверхности МЭ с образованием полимерной плёнки на поверхности электрода.

Исследование электрохимических свойств гепарина в комплексе с толуиленовым синим на МЭ. Для изучения электрохимического поведения гепарина в комплексе с ТС был проведен эксперимент в условиях постоянно-токовой вольтамперометрии на МЭ в области потенциалов от 0,55 В до –0,45 В

при скорости сканирования $W=40$ мВ/с, фоновым электролитом служил буферный раствор Бриттона-Робинсона с рН 1,9, с использованием раствора ТС, подвергнутому кипячению. Изначально были записаны циклические вольтамперные кривые и получены сигналы окисления и восстановления гепарина в комплексе с ТС на МЭ (рисунок 7).

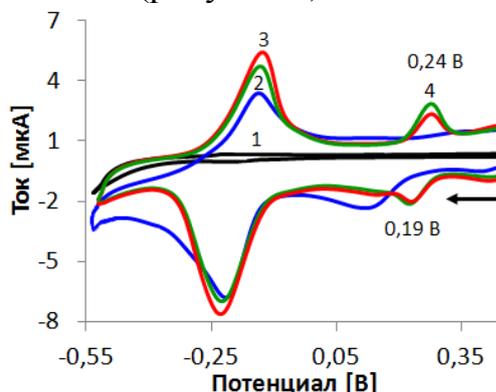


Рисунок 7 – Циклические вольтамперограммы ТС в отсутствии и присутствии гепарина на МЭ: 1 – фоновая кривая, 2 – $C_{ТС}= 29$ мг/дм³; 3 – $C_{Нер}= 5$ мг/дм³; 4 – $C_{Нер}= 10$ мг/дм³. $W = 40$ мВ/с, рН = 1,9

Согласно данным из рисунка 7 введение добавки гепарина приводит к увеличению сигналов электроокисления-восстановления ТК с последующим их уменьшением с ростом концентрации гепарина и появлению катодного и анодного пиков при 0,19 В и 0,24 В, соответственно. Предположительно в результате добавки гепарина в систему происходит восстановление ТС из раствора, который подвергался кипячению, в свою очередь восстановленный ТС образует комплекс с гепарином, что приводит к появлению указанных выше катодного и анодного пиков.

По методу молярных отношений («насыщения») определен состав комплекса Нер-ТС – 1:2 (Нер-ТС₂).

При изучении влияния скорости развертки на сигнал электроокисления комплекса Нер-ТС₂ выявлено наличие адсорбционной составляющей при любом значении рН фонового электролита. Её появление предположительно связано с механизмом протекания метахромазии, в ходе которого происходит образование адсорбционного соединения, состоящего из катиона красителя, связанного с хромотропным полианионом гепарина. Для регистрации вольтамперных кривых комплекса Нер-ТС₂ выбрано значение скорости сканирования потенциала равное 60 мВ/с.

При вольтамперометрическом определении гепарина с использованием ТС на МЭ («in situ», $C_{ТС}=30$ мг/дм³) рабочей областью потенциалов выбрана анодная от 0,1 В до 0,35 В. Для повышения чувствительности определения гепарина в комплексе с ТС регистрацию вольтамперных кривых проводили в дифференциальном режиме. На рисунке 8 изображены анодные вольтамперные кривые комплекса Нер-ТС₂ в зависимости от концентрации гепарина в электрохимической ячейке.

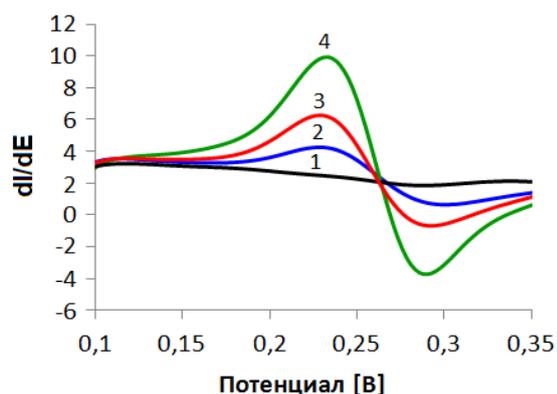


Рисунок 8 –Вольтамперограммы электроокисления ТС в отсутствии и присутствии гепарина на МЭ: 1 – $C_{TC} = 30 \text{ мг/дм}^3$; 2 – $C_{\text{геп}} = 5 \text{ мг/дм}^3$; 3 – $C_{\text{геп}} = 10 \text{ мг/дм}^3$; 4 – $C_{\text{геп}} = 15 \text{ мг/дм}^3$. $W = 60 \text{ мВ/с}$, $\text{pH} = 1,9$

По увеличению тока пика электроокисления комплекса геп-ТС_2 при $E=0,24 \text{ В}$ от концентрации гепарина в электрохимической ячейке была построена градуировочная зависимость для определения гепарина.

В таблице 4 приведены обобщенные условия вольтамперометрического определения гепарина в комплексе с различными красителями.

Таблица 4 – Условия вольтамперометрического определения гепарина в комплексе с различными катионными красителями

Параметр	Краситель		
	МГ	МЗ	ТС
Используемый электрод	СУЭ	РПЭ	МЭ
Область развертки потенциала	от $-0,6$ до $0,4 \text{ В}$	от 0 В до -1 В	от $0,1$ до $0,35 \text{ В}$
Линейный диапазон определяемых концентраций гепарина, мг/дм^3	2–24	2–25	1–23
Уравнение регрессии	$y=0,7979x-0,9479$	$y=0,2462x+0,2358$	$y = 0,5740x + 0,012$
Квадрат коэффициента корреляции	0,9934	0,9907	0,9979
Предел обнаружения, мг/дм^3	0,31	0,48	0,20

Анализируя данные, представленные в таблице 4 можно прийти к выводу, что все исследуемые в работе синтетические красители можно использовать для вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах после изучения влияния матричного эффекта на аналитические сигналы. Однако наиболее рационально применять ТС, ввиду использования нетоксичного МЭ, анодной области развертки потенциалов, наличия собственного сигнала, интенсивность которого увеличивается с увеличением концентрации гепарина в электрохимической ячейке и более низкого значения предела обнаружения.

Четвертая глава посвящена исследованию антиоксидантной активности гепарина с использованием метода катодной вольтамперометрии, в частности процесса электровосстановления кислорода ($\text{ЭВ } \text{O}_2$). Выявлено, что добавка гепаринсодержащих образцов в электрохимическую ячейку приводит к уменьшению тока и сдвигу потенциала полуволны $\text{ЭВ } \text{O}_2$. Такое поведение вольтамперных кривых свидетельствует о проявлении активности гепаринов по

отношению процессу ЭВ O_2 . Наибольшую активность по отношению к процессу ЭВ O_2 показал высокомолекулярный гепарин.

Пятая глава посвящена разработке методики количественного определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием ТС и расчету основных метрологических характеристик.

При исследовании специфичности методики установлено, что дерматансульфат (DS), гиперсульфатированный хондроитин сульфат (OSCS) мешают определению гепарина по разработанной методике. На основании чего, для выбора анализируемых объектов при вольтамперометрическом определении гепарина с использованием ТС, предложено проводить предварительный анализ образцов гепарина методом капиллярного электрофореза с УФ-детектированием для идентификации этих примесей. Наличие бензилового спирта, валина, лейцина, глутаминовой кислоты не оказывает значительного влияния на величину тока окисления комплекса Нер-ТС₂ при подобранных условиях проведения анализа, и как результат, позволяет выполнять его без предварительной многостадийной пробоподготовки.

Правильность разработанной методики вольтамперометрического определения гепарина проверялась с использованием «независимого» спектрофотометрического метода (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты определения гепарина (мг/см³) вольтамперометрическим и спектрофотометрическими методами (n = 6, p = 0,95, t_{таб} = 2,57)

Объект анализа	Вольтамперометрический метод	Спектрофотометрический метод	t _{эсп.}	Заявленное содержание, мг/см ³
Гепарин (ФГУП «Московский эндокринный завод»)	37,0±1,5	38,3±1,4	1,15	38,5
Гепарин-Ферейн (ЗАО «Брынцалов-А»)	36,9±1,9	38,3±2,8	0,77	
Гепарин (ОАО «Акционерное Курганское общество медицинских препаратов и изделий «Синтез»)	38,7±2,2	37,0±1,4	1,22	
Гепарин («Белмедпрепараты»)	37,8±2,1	36,1±2,2	1,02	
Фраксипарин («Санофи Винтроп Индустрия»)	71,2±1,9	73,0±1,7	1,26	73,2

Из таблицы 5 видно, что количественное содержание гепарина в лекарственных препаратах соответствует заявленному в инструкции. Кроме того, можно отметить, что результаты количественного определения гепарина в лекарственных препаратах, полученные спектрофотометрическим и вольтамперометрическими методами хорошо согласуются между собой (t_{эсп.} ≤ t_{таб.}).

Для оценки повторяемости разработанной вольтамперометрической методики проводили анализ 15 серий стандартных фармакопейных растворов гепарина, содержащих гепарин на 3 уровнях концентрации: 1; 11,5; 23 мг/дм³. Анализ выполняли в одной лаборатории, на одном оборудовании, одним аналитиком, в течение одного дня. Количественное содержание гепарина в образцах определяли методом «введено-найдено». Для оценки внутрилабораторной прецизионности проводили анализ аналогичных образцов в

другой день, на другом оборудовании. Результаты расчета метрологических характеристик для уровней концентрации гепарина в растворе, равных 1; 11,5; 23 мг/дм³ представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Обобщенные результаты расчета метрологических характеристик для концентрации гепарина в растворе, равных 1; 11,5; 23 мг/дм³ (P=0,95)

Концентрация гепарина в растворе, мг/дм ³	Показатель повторяемости, σ_r		Показатель внутрилабораторной прецизионности, σ_{R1}		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мг/дм ³	%	мг/дм ³	%	мг/дм ³	%
1,00	0,1	9,7	0,1	10,3	0,3	27,0
11,50	0,7	6,4	0,8	7,1	1,6	17,2
23,00	0,7	3,6	1,2	5,4	2,2	9,5

Рассчитанные выше показатели качества результатов анализа являются установленными характеристиками погрешности для совокупности результатов анализа, полученных при соблюдении требований методики в ходе ее реализации в отдельной лаборатории.

На основании полученных результатов сформулированы следующие выводы:

1. Исследованы электрохимические свойства ряда синтетических катионных красителей (МГ, МЗ, ТС), относящихся к различным классам (тиазинового, трифенилметанового и индаминового). Изучено влияние некоторых факторов на сигналы красителей (рН раствора, материал электрода, природа фонового электролита, скорость развертки потенциала). Предложены возможные механизмы протекания электродных процессов с участием МГ, МЗ, ТС;

2. Изучены физико-химические закономерности электрохимического поведения комплексов «гепарин-краситель». По экспериментальным зависимостям I_p-W и $\lg I_p-\lg W$ выявлено, что исследуемые комплексы адсорбируются на поверхности индикаторных электродов;

3. Подобраны рабочие условия для количественного вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием красителей. При определении гепарина в комплексе с МГ на СУЭ в фоновом электролите с рН 6,86 область прямолинейной зависимости концентрации гепарина от тока электроокисления комплекса Нер-МГ при $E = -0,19$ В находится в диапазоне от 2 до 24 мг/дм³, предел обнаружения 0,31 мг/дм³. В случае определения гепарина в комплексе с МЗ на РПЭ в фоновом электролите с рН 1,65 область прямолинейной зависимости концентрации гепарина от тока электровосстановления комплекса Нер-МЗ при $E = -0,87$ В находится в диапазоне от 2 до 25 мг/дм³, предел обнаружения 0,48 мг/дм³. При определении гепарина в комплексе с ТС на МЭ в фоновом электролите с рН 1,9 область прямолинейной зависимости концентрации гепарина от тока электроокисления комплекса Нер-ТС₂ при $E = 0,24$ В находится в диапазоне от 1 до 23 мг/дм³, предел обнаружения 0,2 мг/дм³. Выявлено, что для вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах, наиболее рационально применять ТС;

4. Установлено, что при добавлении гепаринсодержащих образцов происходит ингибирование процесса катодного электровосстановления кислорода

с изменением времени протекания процесса. Настоящее наблюдение указывает на проявление антиоксидантных свойств у гепарина;

5. Разработана методика количественного вольтамперометрического определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием толуиленового синего. Оценена специфичность разработанной методики. Установлено что дерматан сульфат (DS) и гиперсульфатированный хондроитин сульфат (OSCS) мешают вольтамперометрическому определению гепарина. Для выбора анализируемых объектов при вольтамперометрическом определении гепарина с использованием ТС предложено проводить предварительный анализ образцов гепарина на наличие DS и OSCS методом капиллярного электрофореза с УФ-детектированием;

6. Рассчитаны метрологические характеристики вольтамперометрической методики количественного определения гепарина в лекарственных препаратах с использованием красителя толуиленового синего. Выполнена оценка правильности разработанной методики с использованием «независимого» спектрофотометрического метода.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1 Вишенкова, Д. А. Вольтамперометрическое определение гепарина в комплексе с красителем метиленовым голубым / Д. А. Вишенкова, Е. И. Короткова, Е. В. Дорожко // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – №. 8-3. – С. 561-564.

2 Vishenkova, D. A. Electrochemical determination of heparin in pharmaceuticals with using malachite green / D. A. Vishenkova, E. I. Korotkova, E. V. Dorozhko // *Advanced Materials Research*. – 2014. – V. 1040. – P. 292-296.

3 Vishenkova, D. A. Electrochemical Determination of Some Triphenylmethane Dyes by Means of Voltammetry / D. A. Vishenkova, E. I. Korotkova, V. A. Sokolova, B. Kratochvil // *Procedia Chemistry*. – 2015. – V. 15. – P. 109-114.

4 Вишенкова, Д. А. Электрохимические методы определения гепарина / Д. А. Вишенкова, Е. И. Короткова // *Журнал аналитической химии*. – 2017. – Т. 72 – №. 4. – С. 291-295.

5 Вишенкова, Д. А. Исследование электрохимических свойств гепарина в комплексе с малахитовым зелёным / Д. А. Вишенкова, Е. В. Дорожко // *Материалы Международного молодёжного форума «Ломоносов – 2013»*. – Москва: МАКС Пресс, 2013. – С. 22.

6 Вишенкова, Д. А. Изучение электрохимических свойств красителя малахитового зелёного / Д. А. Вишенкова, Е. В. Дорожко // *Материалы международной научной конференции по аналитической химии и экологии, посвященной 110-летию со дня рождения академика М.Т. Козловского*. – Алматы: КазНУ, 2013. – С. 139-141.

7 Вишенкова, Д. А. Исследование комплексообразующих свойств гепарина с красителем малахитовым зелёным методом вольтамперометрии / Д. А. Вишенкова, Е. И. Короткова, Е. В. Дорожко // *Новые методы аналитической*

химии : Первая Зимняя молодежная школа-конференция с международным участием. – СПб: Соло, 2013. – С. 37.

8 Вишенкова, Д. А. Метод косвенного определения гепарина в лекарственной форме с использованием красителя малахитового зеленого / Д. А. Вишенкова, Е. В. Дорожко // Менделеев – 2013: сборник тезисов докладов VII Всероссийской конференции молодых учёных, аспирантов и студентов с международным участием по химии и наноматериалам. – СПб: Соло, 2013. – С. 106-107.

9 Вишенкова, Д. А. Вольтамперометрическое определение гепарина в комплексе с красителем метиленовым голубым / Д. А. Вишенкова, Е. В. Дорожко // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции имени профессора Л. П. Кулёва студентов и молодых ученых с международным участием. – Томск: ТПУ, 2013. – Т. 1. – С. 241-242.

10 Вишенкова, Д. А. Электрохимическое определение гепарина в комплексе с малахитовым зеленым методом вольтамперометрии / Д. А. Вишенкова // Студент и научно-технический прогресс: материалы 51-ой Международной научной студенческой конференции. – Новосибирск: Изд-во НГУ, 2013. – С. 168.

11 Vishenkova, D. A. Investigation of electrochemical properties of heparin in complex with methylene blue on glass-carbon electrode / D. A. Vishenkova, E. I. Korotkova, E. V. Dorozhko // Современные методы в теоритичексой и экспериментальной электрохимии: материалы VI Международной научной конференции. – Иваново: ИХР РАН, 2014. – С. 90.

12 Вишенкова, Д. А. Исследование электрохимических свойств красителя метиленового голубого методом вольтамперометрии / Д. А. Вишенкова, Е. В. Дорожко // Ломоносов – 2014: материалы международного молодежного научного форума. – Москва: МАКС Пресс, 2014. – С. 30.

13 Вишенкова, Д. А. Необходимость разработки специфических методов качественного и количественного определения гепарина / Д. А. Вишенкова // Интеграция науки, образования и производства - основа реализации Плана Нации (Сагиновские чтения №7): труды международной научно-практической конференции. – Караганда: КарГТУ, 2015. – Т. 5. – С. 260-262.

14 Вишенкова, Д. А. Электрохимическое поведение малахитового зелёного на поверхности ртутно-плёночного электрода / Д. А. Вишенкова // Ломоносов – 2015: материалы Международного молодежного научного форума. – Москва: МАКС Пресс, 2015. – С. 45.

15 Vishenkova, D. A. Indirect electrochemical determination of heparin in pharmaceuticals / D. A. Vishenkova // Проблемы геологии и освоения недр : труды XIX Международного симпозиума имени академика М. А. Усова студентов и молодых ученых, посвященного 70-летию юбилею Победы советского народа над фашистской Германией. – Томск: НИ ТПУ, 2015. – Т. 2. – С. 835-837.

16 Вишенкова, Д. А. Вольтамперометрическое исследование электрохимических свойств малахитового зеленого / Д. А. Вишенкова // Химия и

химическая технология в XXI веке: материалы XVI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 115-летию со дня рождения профессора Л.П. Кулёва. – Томск: ТПУ, 2015. – Т. 1. – С. 197-199.

17 Vishenkova, D. A. Determination of heparin in pharmaceuticals by means of voltammetry with using synthetic cationic dyes / D. A. Vishenkova, N. V. Shkuratova // Научные химические технологии – 2016: материалы XVI Международной научно-технической конференции с элементами школы молодых ученых. – Москва: МГТУ МИРЭА, 2016. – Р. 154.

18 Вишенкова, Д. А. Разработка тест-системы для электрохимического определения гепарина в различных объектах / Д. А. Вишенкова // X Конкурс проектов молодых ученых: сборник тезисов докладов. – Москва: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2016. – С. 90-91.

19 Вишенкова, Д. А. Потенциальное использование вольтамперометрии как метода анализа для определения гепарина в различных объектах / Д. А. Вишенкова // 54-я Международная научная студенческая конференция (МНСК–2016) : Химия: материалы конференции. – Новосибирск: Изд-во НГУ, 2016. – С. 147.

20 Вишенкова, Д. А. Определение гепарина методом дифференциально-импульсной катодной вольтамперометрии / Д. А. Вишенкова // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л. П. Кулева, посвященной 120-летию Томского политехнического университета. – Томск: ТПУ, 2016. – С. 224-225.

21 Вишенкова, Д. А. Оценка возможности определения гепарина электрохимическими методами анализа / Д. А. Вишенкова, Е. И. Короткова // ЭМА 2016: сборник докладов IX Всероссийской конференции по электрохимическим методам анализа с международным участием и молодежной научной школой. – Екатеринбург: УрО РАН, 2016. – С. 75.

22 Вишенкова, Д. А. Вольтамперометрическое определение гепарина в лекарственных препаратах / Д. А. Вишенкова // Аналитика Сибири и Дальнего Востока: материалы X Всероссийской научной конференции с международным участием. – Барнаул: Изд-во АлтГУ, 2016. – С. 76.

23 Вишенкова, Д. А. Определение гепарина электрохимическими и спектральными методами анализа / Д. А. Вишенкова, Е. И. Короткова, В. А. Соколова // XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: тезисы докладов. – Екатеринбург: УрО РАН, 2016. – Т. 4. – С. 197.

24 Vishenkova, D. A. Electrochemical determination of heparin in pharmaceuticals / D. A. Vishenkova // Theoretical and experimental chemistry: Abstracts of the VI International scientific conference. – Караганда: КапГУ, 2017. – Р. 56.

25 Vishenkova, D. A. Determination of Heparin by Means of Voltammetry / D. A. Vishenkova, E. I. Korotkova // Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends

and Applications (IMA-2017): book of Abstracts 10th International Conference. – Heraklion: Crete University Press, 2017. – P. 115.

26 Вишенкова, Д. А. Исследование свойств ряда синтетических красителей катионной природы / Д. А. Вишенкова, Н. В. Шкуратова // 55-я Международная научная студенческая конференция (МНСК–2017). – Новосибирск: НГУ, 2017. – С. 147.

27 Вишенкова, Д. А. Исследование электрохимических свойств ряда катионных красителей на различных материалах электродов / Д. А. Вишенкова // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XVIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва. – Томск: Изд-во ТПУ, 2017. – С. 196.

28 Вишенкова, Д. А. Роль капиллярного электрофореза при разработке косвенной электрохимической методики определения гепарина в лекарственных препаратах / Д. А. Вишенкова // Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез: материалы III Всероссийской конференции. – Краснодар: Кубанский госуниверситет, 2017. – С. 111.

29 Vishenkova, D. A. Electrochemical Determination of Heparin in Pharmaceuticals on a Modified Electrode. [Электронный ресурс] / D. A. Vishenkova, E. I. Korotkova // 6th International Conference on Chemical Technology. Book of abstracts, full papers. – Режим доступа: <http://www.slsz.cz/icct2018/START.htm>.

30 Вишенкова, Д. А. Электрохимическое поведение красителя индаминового класса на модифицированном электроде / Д. А. Вишенкова // Химия и химическая технология в XXI веке : материалы XIX Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулёва студентов и молодых ученых. – Томск : Изд-во ТПУ, 2018. – С. 263-234.