

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования «Национальный исследовательский Томский  
политехнический университет»**

*На правах рукописи*



**Асеева Наталья Валерьевна**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА МЕТОДАМИ  
ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИИ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ**

1.4.2 Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата химических наук

**Научный руководитель:**

Доктор химических наук

Короткова Елена Ивановна

Томск – 2025

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР .....	11
1.1 1,4-Нафтохинон и его производные: Структура, реакционные свойства и биологическая значимость .....	11
1.2 Различные виды биологической активности производных 1,4-нафтохинона	13
1.2.1 Исторический обзор .....	13
1.2.2 Кардиозащитные и антиишемические свойства .....	17
1.2.3 Гепатопротекторные свойства .....	18
1.2.4 Противовоспалительные и обезболивающие свойства .....	20
1.2.5 Антимикробная активность .....	21
1.2.6 Нейропротекторные свойства .....	23
1.2.7 Цитотоксические и противораковые свойства .....	24
1.3 Методы определения производных 1,4-нафтохинона .....	28
1.3.1 Спектральные методы определения .....	28
1.3.1.1 Флуориметрия .....	28
1.3.1.2 Спектрофотометрия .....	30
1.3.2 Хроматографические методы .....	31
1.3.3 Электрохимические методы .....	35
ГЛАВА 2. АППАРАТУРА И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА .....	42
2.1 Приборы, электроды, ячейки, посуда .....	42
2.2 Реактивы .....	45
2.3 Объекты исследования .....	47
2.3.1 Синтез производных 1,4-нафтохинона .....	47
2.4 Приготовление фоновых и исследуемых растворов .....	49
2.5 Методика эксперимента .....	50
2.6 Статистическая обработка результатов .....	55
ГЛАВА 3. ОЦЕНКА ЦИТОПРОТЕКТОРНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА .....	56

3.1 Исследование противораковых свойств производных 1,4-нафтохинона на клеточных линиях РС-3 (аденокарцинома предстательной железы), SKOV-3 (рак яичников), MCF-7 (рак молочной железы) и Jurkat .....	56
3.2. Исследование антиоксидантных свойств производных 1,4-нафтохинона методом вольтамперометрии по току электровосстановления кислорода .....	60
3.3. Исследование активности производных 1,4-нафтохинона по отношению к гидроксильным радикалам .....	63
<b>ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ПРОЦЕССА ОКИСЛЕНИЯ-ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА НА ИМПРЕГНИРОВАННОМ ГРАФИТОВОМ ЭЛЕКТРОДЕ .....</b>	<b>68</b>
4.1 Характеристика импрегнированного графитового электрода (ИМГЭ) .....	69
4.1.1 Исследование морфологии поверхности ИМГЭ методом сканирующей электронной микроскопии.....	69
4.1.2 Вычисление значения электроактивной площади поверхности ИМГЭ .....	70
4.1.3 Исследование электрохимических свойств ИМГЭ методом электрохимической импедансной спектроскопии (ЭИС).....	71
4.2 Исследование электрохимических свойств производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ.....	72
4.3 Исследование физико-химических закономерностей окисления-восстановления производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ .....	75
4.3.1 Исследование адсорбционного характера электрохимического процесса .75	
4.3.2 Схема окисления восстановления производных 1,4-нафтохинона .....	77
4.3.3. Расчет числа электронов участвующих в электрохимической реакции ....	80
4.4 Исследование влияния различных факторов на аналитические сигналы производных 1,4-нафтохинона .....	81
4.4.1 Исследование влияния рН фонового электролита .....	82
4.4.2 Исследование влияния времени и потенциала накопления .....	84
4.5 Построение градуировочных зависимостей значения аналитического сигнала от концентрации анализируемых соединений в модельном растворе методом вольтамперометрии.....	87
<b>ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА .....</b>	<b>91</b>
5.1 ИК-спектроскопия.....	91

5.2 Изучение оптических свойств анализируемых соединений методом спектрофотометрии.....	94
5.3 Исследование влияния рН фонового раствора на положение максимума поглощения и его интенсивность методом спектрофотометрии.....	96
5.4 Построение градуировочных зависимостей значения аналитического сигнала от концентрации анализируемых соединений в модельном растворе методом спектрофотометрии.....	97
Глава 6 РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА В СУБСТАНЦИЯХ.....	101
6.1 Оценка гипотезы линейности градуировочных зависимостей для соединений NQ1 и NQS .....	101
6.2 Исследование мешающего влияния сопутствующих компонентов матрицы на аналитические сигналы производных 1,4-нафтохинона .....	109
6.3. Разработка вольтамперометрической методики определения производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ в субстанции .....	111
6.4 Разработка спектрофотометрической методики определения производных 1,4-нафтохинона в субстанции .....	112
6.5. Сравнительный анализ разработанных вольтамперометрической и спектрофотометрической методик определения производных 1,4-нафтохинона в субстанции.....	113
6.6 Метрологические характеристики вольтамперометрической методики определения производных 1,4-нафтохинона в субстанции .....	114
6.6.1 Показатели качества вольтамперометрических методик определения соединений NQ1 и NQS в субстанции .....	115
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	119
ВЫВОДЫ .....	123
СПИСОК ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ .....	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	127
Приложение А РАСЧЕТ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДЛЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА В СУБСТАНЦИИ .....	144

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность работы

Нафтохиноны и их производные в последнее время находят широкое применение в борьбе против опухолевых заболеваний. Рак является одной из основных причин преждевременной смерти в мире уступая только сердечно-сосудистым заболеваниям (ССЗ). На сегодняшний день смертность от ССЗ преобладает в 70 странах (включая Бразилию и Индию), а рак в 57 странах (включая Китай). Тем не менее, согласно актуальным тенденциям, основанным на анализе данных о смертности, существует вероятность, что в течение этого столетия рак может занять позицию главной причины преждевременной смерти в большинстве стран мира, опередив при этом сердечно-сосудистые заболевания. К примеру, уже за 2020 год по отчету Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) от рака умерло около 10 миллионов человек, что составляет каждую шестую смерть на планете [1]. Наиболее распространенными видами рака, являются рак молочной железы, легких, толстой и прямой кишки, а также рак предстательной железы. Эти данные подчеркивают важность дальнейших исследований и профилактических мер для борьбы с этим серьезным вызовом для мирового здравоохранения.

В связи с вышесказанным, существует острая необходимость разработки химиотерапевтических стратегий с использованием новых низкомолекулярных противоопухолевых агентов. Вещества с хиноновой структурой, как природные, так и синтетические, демонстрируют широкий спектр биологической активности, включая антимикробное, противовоспалительное, противовирусное, кардиозащитное, антиишемическое и противоопухолевое действие. Долгое время в центре внимания многих исследований было изучение противораковой активности синтетических и природных нафтохинонов, после исследований проведенных практически полвека назад Национальным институтом рака (NCI-USA).

В настоящее время для химиотерапии клинически используются такие представители ряда хинонов как, антрациклиновые антибиотики (даунорубицин, доксорубицин, идарубицин, митоксантрон), блеомицины, дактиномицин и

митомицин–С. Такое клиническое значение представителей этого класса соединений стимулировало огромный исследовательский интерес к разработке новых лекарственных соединений содержащих в своей структуре нафтохиноновый фрагмент, а также оценки их электрохимической активности, подтверждающей протекание окислительно-восстановительных реакций в организме и описание механизмов протекания данных реакций. Таким образом, исследование электрохимической активности и разработка количественных методик определения производных 1,4-нафтохинона, обладающих потенциалом в качестве новых противоопухолевых агентов, представляет собой актуальную научную задачу, для разработки новых терапевтических стратегий.

**Цель работы:** исследование физико-химических закономерностей окисления–восстановления новых производных 1,4-нафтохинона методом вольтамперометрии, изучение их оптических свойств спектральными методами, и разработка вольтамперометрической и спектрофотометрической методик количественного определения этих соединений в субстанции.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Исследование электрохимических и оптических свойств производных 1,4-нафтохинона, выбор рабочих условий для получение аналитического сигнала от них;
2. Исследование морфологии поверхности электрода методом сканирующей электронной микроскопии, а также электрохимических свойств электрода методом электрохимической импедансной спектроскопии (ЭИС);
3. Исследование физико-химических закономерностей процесса окисления – восстановления производных 1,4-нафтохинона (обратимость, наличие адсорбции, расчет числа электронов участвующих в ходе реакции). Оценка схем окисления-восстановления производных 1,4-нафтохинонов;
4. Подбор рабочих параметров для количественного определения производных 1,4-нафтохинона;

5. Разработка методик количественного определения производных 1,4-нафтохинона в субстанциях, включающих оценку основных метрологических характеристик;

6. Исследование цитопротекторных и антиоксидантных свойств новых производных 1,4-нафтохинона.

**Научная новизна:**

1. Исследованы физико-химические закономерности окисления-восстановления новых производных 1,4-нафтохинона. Показано, что процесс имеет квазиобратимый характер, осложненный адсорбцией соединений на поверхности рабочего импрегнированного графитового электрода. Предложены схемы окисления-восстановления анализируемых производных 1,4-нафтохинона на импрегнированном графитовом электроде. Показано появление новых пиков окисления-восстановления производных 1,4-нафтохинона (NQ1 и NQS) при потенциалах  $(-0,60 \pm 0,05)$  В и  $(-0,40 \pm 0,05)$  В соответственно, характерных для иминогруппы, а также один пик для NQ1, относящийся к процессу электроокисления гидроксильной группы при потенциале  $(0,14 \pm 0,05)$  В.

2. Исследованы оптические свойства производных 1,4-нафтохинона спектральными методами. Показано, что наибольшая интенсивность поглощения наблюдается при длине волны 280 нм для всех исследованных производных 1,4-нафтохинонов. Кроме того, показано, что введение в бензольное кольцо хромофорной или ауксохромной групп приводит к батохромному сдвигу (сдвиг в сторону более длинных волн) данной полосы поглощения и увеличению её интенсивности (гиперхромный эффект) для двух производных 1,4-нафтохинонов. Отмечено появление новой волны поглощения для двух производных 1,4-нафтохинона (NQ1 и NQS) в видимой области при длине волны 480 нм, типичной для аминзамещенных хинонов.

3. Разработаны алгоритмы проведения количественного определения производных 1,4 нафтохинонов в субстанции методами вольтамперометрии и спектрофотометрии. Линейный диапазон определения соединений NQ1 и NQS методом вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала в режиме первой

производной составил от 1 до 800 и от 0,5 до 10 мкмоль/дм<sup>3</sup> с пределами обнаружения 0,8 и 0,086 мкмоль/дм<sup>3</sup> для NQ1 и NQS соответственно. Линейный диапазон определения соединений NQ1 и NQS методом спектрофотометрии составил от 0,3 до 2 мкмоль/дм<sup>3</sup> и от 0,2 до 2 мкмоль/дм<sup>3</sup> с пределами обнаружения 0,094 и 0,073 мкмоль/дм<sup>3</sup> для NQ1 и NQS соответственно.

#### **Практическая значимость:**

1. Подобраны рабочие условия регистрации вольтамперометрического и спектрофотометрического сигналов производных 1,4-нафтохинона.

2. Разработана вольтамперометрическая и спектрофотометрическая методики количественного определения производных 1,4-нафтохинона в субстанции, которые могут найти применение в лабораториях контроля качества фармацевтической продукции.

3. Исследованы цитопротекторная и антиоксидантная активности производных 1,4-нафтохинона. Показано, что данные соединения проявляют цитопротекторную активность по отношению к раковым клеткам PC-3 (аденокарцинома предстательной железы), SKOV-3 (рак яичников), MCF-7 (рак молочной железы) и Jurkat. Также данные соединения проявляют антиоксидантную активность по отношению к активным кислородным радикалам, сравнимую с известными антиоксидантами.

**Личный вклад автора.** Заключается в анализе и систематизации литературных данных по различным видам биологической активности и методам определения производных 1,4-нафтохинона. Проведении экспериментальных исследований по изучению электрохимических и оптических свойств анализируемых производных 1,4-нафтохинона. Подборе рабочих условий для регистрации вольтамперометрического и спектрофотометрического сигналов, а также разработке вольтамперометрической и спектрофотометрической методик количественного определения производных 1,4-нафтохинона в субстанции, включая обработку и представление результатов эксперимента, публикации результатов, полученных в ходе выполнения данного научного исследования в виде научных трудов (тезисов, статей и патентов).

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Результаты исследования электрохимических и оптических свойств производных 1,4-нафтохинона. Исследование физико-химических закономерностей процесса окисления-восстановления производных 1,4-нафтохинона (обратимость, наличие адсорбции, расчет числа электронов участвующих в ходе реакции). Оценка схем окисления-восстановления производных 1,4-нафтохинонов;

2. Рабочие условия определения производных 1,4-нафтохинона (потенциал, время накопления и рН раствора фоновое электролита). Разработка вольтамперометрической и спектрофотометрической методик количественного определения анализируемых производных 1,4-нафтохинона в субстанции.

3. Оценка цитопротекторной и антиоксидантной активности производных 1,4-нафтохинона (противораковых свойств, антиоксидантных свойств, а также активности по отношению к гидроксильным радикалам).

### **Апробация результатов работы:**

Основные результаты исследовательской работы докладывались и обсуждались на XI Всероссийской научной конференции и школы «Аналитика Сибири и Дальнего Востока», посвященной 100-летию со дня рождения И.Г. Юделевича (АСиДВ-11) (г. Новосибирск, 2021), 12 International Conference on Instrumental Methods of Analysis Modern Trends and Applications (Греция, 2021, virtual event), Всероссийском симпозиуме и школе-конференции молодых ученых «Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях» (г. Севастополь, 2021), XXIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л.П. Кулёва и Н.М. Кижнера «Химия и химическая технология в XXI» (г. Томск, 2022), IV Съезде аналитиков России (г. Москва, 2022).

### **Публикации:**

Результаты проведенных исследований отражены в 13 печатных работах, из которых 3 статьи в научных журналах, которые индексируются базами Web of

Science и Scopus, 9 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях и 1 патент на изобретение.

### **Структура и объем работы:**

Диссертационная работа изложена на 167 страницах машинописного текста и включает 29 рисунков, 29 таблиц, 2 схемы и список литературы, состоящий из 165 источников.

**Благодарности.** Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю, д.х.н., профессору ОХИ ИШПР ТПУ Коротковой Елене Ивановне за всестороннюю поддержку, полученные знания, ценные советы и наставления, оказанные на протяжении всей подготовки диссертации. Особая признательность адресуется к.х.н., доцентам ОХИ ИШПР ТПУ Липских Ольге Ивановне и Дорожке Елене Владимировне за помощь в обсуждении экспериментальных данных и всестороннюю поддержку в проведении исследований. Автор также выражает признательность к.х.н., доценту ИШХБМТ ТПУ Плотникову Евгению Владимировичу за исследование противораковых свойств производных 1,4-нафтохинона, к.х.н., а также доценту ОХИ ИШПР ТПУ Вороновой Олесе Александровне за вклад в исследование антиоксидантных свойств.

Также автор выражает признательность научной группе под руководством д.х.н., профессора научно-образовательного центра Н.М. Кижнера ТПУ Хлебникова Андрея Ивановича за предоставление производных 1,4-нафтохинона. Автор благодарен всем своим коллегам за поддержку и помощь в процессе выполнения диссертационной работы.

## ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Хиноны, а также их производные изучаются уже более века благодаря их электронным и химическим свойствам. В частности, хиноны обладают несколькими уникальными свойствами связанными, с их окислительно-восстановительным потенциалом, позволяющими им подвергаться как одно-, так и двухэлектронному восстановлению и образовывать семихиноны и гидрохиноны соответственно [2]. Их реакционную способность и фармакологические свойства также можно регулировать с помощью различных структурных модификаций, описанных во многих публикациях [3–5].

Однако, хотя самые ранние исследования, касающиеся химии хинонов, относятся к концу 19 века, только в 1950-х годах начинается понимание их изобилия среди биомолекул. Началом этой области исследования, стало открытие в 1957 году кофермента Q, который, как было установлено, присутствует повсеместно в организмах животных и бактерий и играет важную роль в митохондриальном транспорте электронов, а также участвует во многих биологических функциях живого организма начиная от образования костей у млекопитающих и заканчивая механизмами защиты у насекомых [6].

Хиноны, являются типичными коферментами, действующими в электрон-транспортных цепях для перемещения электронов между многими мембранными белками, но их известное в биологии клеток умение сохранять или преобразовывать энергию стимулировало интерес, к применению данных веществ в усовершенствованных литий-натриевых батареях [7, 8], а также в качестве катализаторов в топливных биоэлементах [9].

Хиноны являются важными молекулами в живом мире, действуя как окислительно-восстановительные катализаторы [10], антиоксиданты и прооксиданты [11], а также как красители [12, 13], пигменты [14, 15] и т.д.

### **1.1 1,4-нафтохинон и его производные: структура, реакционные свойства и биологическая значимость**

1,4-нафтохинон (пара-нафтохинон) (1) – органическое соединение, являющееся токсичным метаболитом нафталина, основного многоядерного ароматического углеводорода, присутствующего в окружающей среде. В частности, при окислении двух атомов бензольного кольца в  $\alpha$ -положении нафталинового ядра, наблюдается образование 1,4-нафтохинона, у которого в свою очередь 1,4-хиноидное ядро аннелировано с ароматическим (бензольным) кольцом [16]. Его стабильная структура и высокая реакционная способность, характеризуемая высоким потенциалом к реакциям восстановления, окисления, а также присоединения O-, N- и S-нуклеофилов обусловлены наличием сопряжения между системой двойных связей хинонного кольца и двух кетогрупп в молекуле [17, 18]. 1,4-нафтохинон проявляет свое действие посредством двух реакций: как прооксидант, восстанавливая кислород до активных форм кислорода; и как электрофил, образуя ковалентные связи с тканевыми нуклеофилами.

Также 1,4-нафтохинон представляет собой важный пример семейства нафтохинонов и в промышленности используется в качестве сырья для фармацевтических препаратов, агрохимикатов и других функциональных химикатов. В окружающей среде в умеренной степени подвергается биоразложению в почве и поверхностных водах. Производные 1,4-нафтохинона широко известны как функциональные метаболиты различных растений, микробов, морских организмов [19] и т.д. Важность их фармакологических и биологических свойств подтверждена и обоснована многочисленными исследованиями; например витамины K1 и K2, получаемые из растений и кишечных бактерий, являются жизненно важными факторами в реакции свертывания крови, и их отсутствие увеличивает риск коагулопатии, а также некофакторные функции витамина K, включают в себя такие функции как, подавление воспаления, предотвращение окислительного повреждения головного мозга и ключевую роль в синтезе сфинголипидов [20]. Витамин K3 (менадион) достаточно часто используется в качестве модельного хинона в исследованиях *in vivo*. Он подвергается как циклу окисления-восстановления, так и реакциям арилирования, что характерно для производных 1,4-нафтохинона [21]. Потенциал

менадиона вызывать гибель раковых клеток коррелирует с активацией подгруппы семейства MAPK (митоген-активируемых протеинкиназ), киназы, регулируемой внеклеточным сигналом (ERK 1 и ERK 2) [22].

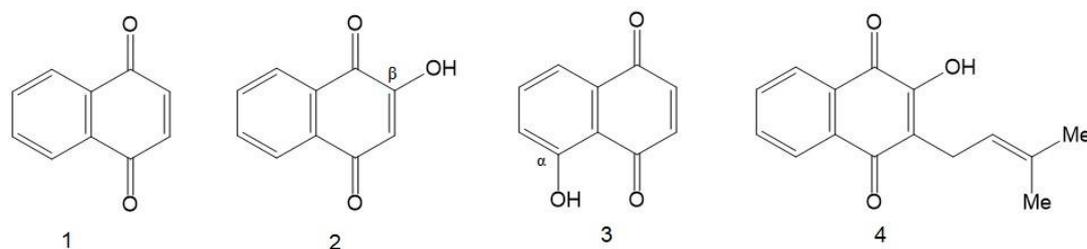
Такие нафтохиноны, как шиконин и плюмбагин находящиеся в некоторых широко используемых лекарственных травах, являются основными эффективными компонентами, оказывающими противомикробное, инсектицидное, противовоспалительное, ранозаживляющее действие [23, 24].

Исходя из вышесказанного можно сделать вывод, что высокая реакционная способность нафтохинонов и их производных, получаемых при постоянном усовершенствовании методов модификации химической структуры, способствует дальнейшему изучению данной группы соединений и разработке новых видов веществ с различными видами биологической активности.

## 1.2 Различные виды биологической активности производных 1,4-нафтохинона

### 1.2.1 Исторический обзор

Применение 1,4-нафтохинонов в народной медицине, домашних средствах, а также в косметике начинается еще несколько веков назад. Такие природные нафтохиноны как лавсон (2), юглон (3) и лапахол (4) были исследованы одними из первых (рисунок 1).



1 – 1,4-нафтохинон, 2 – лавсон, 3 – юглон, 4 – лапахол

Рисунок 1 – Структурные формулы 1,4-нафтохинонов

Одним из важных примеров этого применения является хна, используемая до сих пор женщинами, как в бытовых нуждах, так и для придания яркого красного пигмента коже и волосам. Хна, представляет собой натуральный и безопасный для

здоровья краситель, в виде пасты, изготавливаемый из листьев тропического кустарника *Lawsonia inermis*, содержащих лавсон (2-гидрокси-1,4-нафтохинон), предварительно измельченных в порошок [25]. Также стоит отметить, что 2-гидрокси-1,4-нафтохинон находил применение не только для окрашивания волос и кожи, а также в косметике являясь основой красок для губ и румян. С помощью растительных красителей женщины могли подчеркивать свои черты лица, что делало такие продукты популярными среди различных культур [26].

Однако 2-гидрокси-1,4-нафтохинон имеет не только значительное историческое и культурное значение как натуральный краситель, так как его применение продолжает развиваться, открывая новые возможности для использования в современной косметике. Это становится возможным из-за наблюдаемого в последние годы возрождения интереса к натуральным и органическим компонентам в косметической индустрии. На сегодняшний день 2-гидрокси-1,4-нафтохинон становится все более распространенным в современных косметологических продуктах, поскольку многие бренды внедряют это соединение в свои формулы, отвечая на рост популярности устойчивой косметики [27].

Еще один представитель ряда производных 1,4-нафтохинона юглон (5-гидрокси-1,4-нафтохинон) был выделен из многочисленных видов грецкого ореха, в том числе черного ореха (*Juglans nigra*), английского или персидского ореха (*J. regia*) и японского ореха (*J. sieboldiana*), а также мускатного ореха (*J. cinerea*) и дерева гикори (*Carya ovata*) [28].

Использование юглона начинается с древних времен. К примеру, в традиционной медицине юглон из грецкого ореха применялся как антимикробное средство, а в средние века в Европе и Азии его экстракты применяли для борьбы с воспалениями и кожными паразитами. Упоминания о его лечебных свойствах можно найти в медицинских трактатах разных культур, что подчеркивает универсальность и долговечность применения данного соединения [29].

Юглон и в настоящее время продолжает привлекать внимание исследователей своими разнообразными биологическими и фармакологическими свойствами. Проводимые исследования показали, что юглон проявляет активность

против различных патогенных микроорганизмов. Механизм действия данного соединения заключается в разрушении клеточных мембран и специфическом воздействии на метаболические пути бактерий и грибов [30, 31].

Многие исследования подтверждают, что юглон обладает противовоспалительным эффектом, который может быть объяснен несколькими механизмами. Одним из которых является ингибирование синтеза противовоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-6 и опухолевый некротический фактор альфа (ОНФ- $\alpha$ ) [32, 33]. Также было установлено, что юглон может снижать активность ферментов, участвующих в воспалительных процессах, таких как циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2) и липоксигеназа (ЛОГ) [34, 35]. В исследованиях на модельных животных было показано, что юглон значительно уменьшает отек, вызванный воспалением при применении в концентрациях, которые не оказывают токсического действия. Эти эксперименты указывают на потенциальную возможность применения юглона для лечения воспалительных заболеваний, таких как артрит и дерматит [36, 37].

Юглон демонстрирует выраженные антиоксидантные свойства благодаря своей способности нейтрализовать свободные радикалы. Он может взаимодействовать с пероксидными радикалами, тем самым предотвращая окисление клеточных компонентов и защищая мембраны от повреждений. Кроме того, юглон способен активировать эндогенные антиоксидантные системы организма, способствуя синтезу глутатиона и других защитных молекул [38].

История юглона как лекарственного средства охватывает множество аспектов, начиная с древних традиций и заканчивая современными научными исследованиями. На сегодняшнее время этот 1,4-нафтохинон продолжает вызывать интерес как в области фармакологии, так и в традиционной медицине, что несомненно подчеркивает его потенциальную ценность для разработки новых методов лечения и исследований всего спектра его свойств и возможностей применения.

Из тропических растений семейства *Vignoniaceae* выделены 2-гидрокси-3-(3-метил-2-бутенил)-1,4-нафтохинон (лапахол) и его циклические производные  $\alpha$ - и

$\beta$ -лапахон, имеющие богатую историю применения в народной и современной медицине. Использование лапахола уходит корнями в традиционную медицинскую практику многих культур. Например, в Южной Америке коренные народы, применяли экстракты растений, содержащие лапахол, для лечения различных заболеваний, включая кожные заболевания и воспалительные процессы. Традиционно этот компонент использовали в виде настоек и мазей, получая от него антимикробные и противовоспалительные эффекты [39].

Антибактериальная, противовоспалительная, а также антиоксидантная активности лапахола не только изучается, но и имеют подтверждение материалами многих современных исследований. Данное соединение обладает способностью подавлять рост различных патогенных микроорганизмов (стафилококки и грибы), снижать уровень противовоспалительных маркеров, а также защищать клетки от окислительного стресса, что свою очередь способствует еще более активному исследованию данного соединения для его последующего применения в фармацевтике, косметологии и даже пищевой промышленности [40, 42].

Также многие исследования доказывают, что лапахол проявляет себя в качестве противоопухолевого агента. Несмотря на некоторую токсичность данного вещества его способность подавлять рост различных видов опухолевых клеток заставляет ученых со всего мира не только продолжать исследование механизмов цитотоксичности данного соединения, но и искать его новые производные для оценки потенциала данных веществ как антиметастатических препаратов.

Также стоит отметить еще одно соединение, относящееся к классу хинонов, а именно его вторичный метаболит – шиконин. Данный метаболит продуцируется таким растением как *Lithospermum erythrorhizon* (красный корень), и играет важную роль в экологии и защите от патогенов, что делает его неотъемлемой частью научных изысканий. За последние пятьдесят лет, биологическая активность шиконина, а именно его антимикробные, противовоспалительные, противовирусные, противоопухолевые, антиангиогенные и ранозаживляющие свойства подверглись глубокому изучению [43–46]. Дальнейшее продолжение изучения данных о природных источниках, подходах к биологическому и

химическому синтезу, как шиконина, так и его производных, фармакологических и токсикологических исследованиях, проводимых по всему миру, может привести к разработке новых терапевтических средств для лечения различных заболеваний.

### 1.2.2 Кардиозащитные и антиишемические свойства

По данным Всемирной организации здравоохранения сердечно-сосудистые заболевания, включающие в себя острую и хроническую ишемическую болезнь сердца, сердечную недостаточность и аритмию, инсульт и артериальную гипертензию занимают первое место среди болезней человека [47]. В настоящее время ученые по всему миру активно участвуют в поиске и разработке лекарств, борющихся с нарушениями липидного обмена, способствующих снижению уровня выработки свободных радикалов и повышающих антиоксидантную активность крови и иммунитета человека. В связи с этим способность производных 1,4-нафтохинона снижать уровень окислительного стресса делает их потенциально перспективными терапевтическими средствами для лечения ССЗ [48, 49].

Особое положение в числе соединений, проявляющих антиоксидантные свойства занимают полигидроксиафтохиноны нафтазариновой группы, благодаря их отличительной способности заключающейся в улавливании ионов  $Fe^{2+}$ , ответственных в свою очередь за образование активных форм кислорода [50]. Одним из перспективных представителей группы полигидроксиафтохинонов является эхинохром А (7-этил-2,3,5,6,8-пентагидрокси-1,4-нафтохинон) – это природный пигмент морского происхождения, впервые обнаруженный в панцирях и иглах многих видов морских ежей, однако, наибольшее его количество содержится в виде *Scaphechinus mirabilis* [51]. Наличие орто-гидроксильных групп и кетоловой структуры эхинохрома А делает из него молекулу, со структурным фрагментом, аналогичным с молекулами витаминов группы К и витамина С, положительная роль которых в снижении риска развития ишемической болезни сердца и уменьшении степени кальцификации артерий давно доказана [52, 53]. Антиоксидантные свойства эхинохрома А относятся не только к способностям захвата пероксидных радикалов в липосомах, улавливания супероксидных анион-радикалов и связывания ионов  $Fe^{2+}$  с неактивными комплексами в водной фазе, но

и также к достаточно высокому уровню радикал-акцепторной активности без первичного мембранотропного эффекта [54]. Считается, что выраженная кардиопротекторная защита и противовоспалительная активность данного соединения связаны не только с его способностью нейтрализовать активные формы кислорода, но и с возможностью генерировать физиологически значимые концентрации молекул перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) в биологических системах как сигнальных посредников различных биохимических путей и метаболических процессов [55].

Это соединение выступает активным компонентом кардиопротекторного препарата под торговым названием Гистохром (HistoChrome™), который активно используется в офтальмологии и для лечения хронических заболеваний легких, а также в кардиологии у больных с острым инфарктом миокарда для снижения частоты желудочковых экстрасистол и эпизодов ускоренного идиовентрикулярного ритма после тромболитической терапии [56–58].

Кроме того, стоит упомянуть работы российских ученых, изучающих и подтвердивших противоритмическую активность аминокислотсодержащих производных 1,4-нафтохинона на моделях ранних окклюзионных и репер-фузионных аритмий [59, 60].

### **1.2.3 Гепатопротекторные свойства**

Эхинохром проявлял гепатопротекторное действие на животных моделях сепсиса и внутрипеченочного холестаза у крыс. А именно в моделях сепсиса у крыс с легированием и пункцией слепой кишки введение эхинохрома значительно защищало функции печени от сепсиса. Это сопровождалось снижением активности ферментов-маркеров стресса печени, таких как аланинтрансаминаза (АЛТ), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), аспаратаминотрансфераза (АСТ) и щелочная фосфатаза (ЩФ), и увеличением содержания альбумина. Также стоит отметить способность эхинохрома противодействовать окислительному стрессу, вызванному сепсисом печени, за счет увеличения содержания глутатиона и активности антиоксидантных ферментов, а именно супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы,

глутатионредуктазы и глутатион-S-трансферазы. Эти антиоксидантные эффекты эхинохрома способствуют снижению перекисного окисления липидов и повреждению тканей модели печени, что располагает также к его применению в качестве потенциального альтернативного антисептического средства. Кроме того, лечение эхинохромом в некоторой степени способствовало восстановлению аномальной архитектуры печеночных тканей, вызванную полимикробной инфекцией [61]. В добавок к предшествующему гепатопротекторное и антихолестатическое действие эхинохрома при внутрипеченочном холестаза у крыс, вызванным таким гепатотоксином, как  $\alpha$ -нафтилизотиоционат описано в исследовании [62].

Гепатопротекция плюмбагина на моделях внепеченочного холестаза у крыс с использованием легирования желчных протоков изучалась в работе [63]. Обнаружено, что ежедневный прием плюмбагина, защищает печень от холестатического повреждения, это сопровождается снижением трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  (ТФР  $\beta 1$ ), гипоксия-индуцируемого фактора-1 $\alpha$  (ГИФ-1 $\alpha$ ), рецептора арилуглеводородов (АУР), кавеолина-1, уровня малонового альдегида, интерлейкина-1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ), а также увеличением глутатиона, уровня транспортеров оттока желчных кислот, франеозидного X-рецептора (ФХР), ядерного родственного фактора-2 (ЯРФ-2) и транскрипционного фактора ЕБ (ТФЕБ). Активация ЯРФ-2, вызванная приемом плюмбагина, хорошо коррелирует с улучшением задержки желчных кислот, гистологией печени, биохимических показателей сыворотки, уровня окислительного стресса, нарушением аутофагии и фиброза, включающего взаимодействие внутриклеточных сигнальных путей. Исходя из многообещающих результатов этого исследования, трансляционное влияние плюмбагина на холестатическое повреждение печени требует дальнейшего изучения, однако, не отменяет того факта, что плюмбагин, вероятно является лекарством-кандидатом для защиты печени от холестатических повреждений.

Гепатопротекторная активность также была обнаружена у трех производных нафтохинона выделенных из *Cucumis bisexualis* из семейства *Cucurbitaceae*.

Соединения демонстрировали значительный стимулирующий эффект на пролиферацию клеток человека L-O2. Результаты, полученные при проведении данного исследования, могут помочь в поиске новых натуральных или синтетических продуктов с гепатозащитными свойствами [64].

#### 1.2.4 Противовоспалительные и обезболивающие свойства

В результате исследования было установлено, что синтетические производные 1,4-нафтохинона способны ингибировать противовоспалительные функции рецепторов P2X7 в клетках макрофагов. Данные соединения обладают выраженной противовоспалительной активностью *in vitro*, влияя на действие противовоспалительного фермента циклооксигеназу 2 (ЦОГ-2) и снижая продукцию противовоспалительного цитокина TNF- $\alpha$ , обусловленную путем активации P2X7R [65].

Противовоспалительные, обезболивающие и седативные свойства природного производного нафтохинона выделенного из *Diospyros kaki* (хурма) были оценены в исследовании [66]. Данная исследовательская работа позволила рационализировать использование в народной медицине *Diospyros kaki* (хурма) для лечения воспаления, боли и бессонницы.

Биологическая активность экстрактов полигидрокси-1,4-нафтохинона (ПГНФ), получаемых из раковин и шипов морского ежа *Evechinus chloroticus* была изучена авторами [67]. Как сырьевые экстракты ПГНФ, так и фракции ПГНФ проявляли противомикробную активность по отношению к *E. coli*, *S. mutans* и *S. Aureus*, а также противовоспалительную активность в биологическом анализе гранулемы у крыс.

Противовоспалительная и обезболивающая активность листьев *Plumbago zeylanica* Linn. (*Plumbaginaceae*) изучалась в исследовании [68]. Наличие наблюдаемой биологической активности экстрактов можно объяснить наличием нафтохинона, плюмбагина в качестве одного из активных компонентов, а также дубильных веществ, флавоноидов и тритерпеноидов, играющих ведущую роль в защите организма от воспаления и обезболивании.

### 1.2.5 Антимикробная активность

Благодаря своим разнообразным функциям и обширному клиническому применению, нафтохиноны находятся в центре существующих исследований при разработке и внедрении более эффективных антимикробных агентов. К примеру, авторами [69] синтезирована новая серия производных 1,4-нафтохинона. Все синтезированные соединения были протестированы на антимикробную активность *in vitro*, семь из них показали лучшую антимикробную активность против *Staphylococcus aureus*, некоторые из протестированных соединений показали умеренную противомикробную активность в отношении *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella bongori*.

В исследовании [70] *in vitro* оценена антибактериальная активность нескольких природных нафтохинонов и их производных, несущих 1,4-нафтохиноновый скелет, в отношении *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. При минимальной ингибирующей концентрации (МИК)  $\leq 0,125$  мкмоль/дм<sup>3</sup> юглона, 8-диметокси-1,4-нафтохинона и 7-метил-5-ацетокси-1,4-нафтохинона наблюдалась сильная антибактериальная активность в отношении *Staphylococcus aureus*.

Среди исследованных соединений юглон продемонстрировал максимальную антибактериальную эффективность. Механические исследования показали, что его действие вызывает гибель бактериальных клеток за счет индукции продукции активных форм кислорода (АФК), что, в свою очередь, приводит к повреждению ДНК. Этот эффект подчеркивает ключевое значение анализа взаимосвязи структурных особенностей нафтохиноновых производных с их биологической активностью при разработке новых антимикробных средств.

К примеру, в работе [71] был проведен синтез серии из 50 производных нафтохинона и оценена их антибактериальная и противогрибковая активность. В ходе данного исследования соотношение структура-активность представленных соединений показало, что наличие галогеновых заместителей в положениях С2 и/или С3 в качестве функциональных групп оказывает наибольшее влияние на эти виды биологической активности. Наличие карбонильных групп при С1 и С4 усиливает противомикробную активность. Однако боковые цепи с более чем

десятью атомами углерода увеличивают липофильность исследуемых соединений, что приводит к прогрессивному снижению их активности, а вследствие и дезактивации. Два кольца нафтохинонового ядра необходимы для антимикробной активности этих соединений, но наличие дополнительных колец в структуре или отсутствие одного из них приводит к неактивным соединениям. Также для антибактериальной активности решающим фактором является наличие гидроксильных групп в положениях C5 и/или C8.

Два новых гетероциклических лиганда, 2-[(5-фтор-1,3-бензотиазол-2-ил)амино]нафталин-1,4-дион и 2-[(5-метил-1,3-бензотиазол-2-ил)амино]нафталин-1,4-дион и их комплексы Pd(II), Ni(II) и Co(II) были получены, а также доказана их эффективность *in vitro* в отношении некоторых клинически выделенных штаммов бактерий. Комплекс с Ni(II) показал наилучшие антибактериальные результаты [72].

Хотя туберкулез поддается терапии, он остается крупной проблемой для мирового здравоохранения. Это обусловлено длительными сроками лечения, нежелательными токсическими эффектами применяемых препаратов и формированием лекарственной устойчивости у возбудителя (*Mycobacterium tuberculosis*). Производные нафтохинона, описанные в работах [73–75] являются многообещающей основой для разработки новых терапевтических лекарств против туберкулеза.

Также в настоящее время для борьбы с малярией и пневмонией, вызываемой простейшими микроорганизмами *Plasmodium falciparum*, применяют препарат Маларон (Маларон®), являющийся комбинацией прогуанила и атоваквона (нафтохинона) [76]. Однако, в связи с существующей проблемой распространения резистентности *P. falciparum* разработка потенциально перспективных противомаларийных средств из ряда производных нафтохинона является перспективным направлением и заслуживает дальнейших исследований по оптимизации [77–78].

### 1.2.6 Нейропротекторные свойства

Болезнь Альцгеймера на сегодняшний день представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся в основном гибелью нейронов в различных областях головного мозга. Однако, несмотря на то, что болезнь Альцгеймера имеет высокое клиническое и социальное значение вследствие её глобальной распространенности как наиболее часто встречающейся формы деменции, её этиология все еще нуждается в четком понимании. На сегодняшний день имеется масса сведений, доказывающих многофакторную природу болезни, возникающей в результате сложной сети нейрохимических факторов, которые необходимо одновременно модулировать, чтобы стремиться к лучшему исходу заболевания. В связи с этим в литературе содержится множество примеров нафтохиноновых и антрахиноновых соединений природного или синтетического происхождения, обладающих многообещающими свойствами против различных мишеней болезни Альцгеймера [79].

К примеру, в работе [80] были синтезированы производные нафтохинона и антрахинона с ароматической/гетероароматической цепью. На основании биологического профиля *in vitro* данные соединения проявляли значительную способность в ингибировании агрегации амилоида, тау-последовательности парных спиральных фрагментов, ацетил холинэстеразы (АХЭ) и моноаминоксидазы (МАО). Также, атомно-силовая микроскопия (АСМ) показала, что наиболее перспективные нафтохиноны и антрахиноны были способны нарушать фибрилляцию  $\beta$ -амилоида ( $A\beta$ ), деконструируя морфологию его фибриллярных агрегатов. Более того, те же соединения оказали нейропротекторный эффект против токсичности  $A\beta$  в первичных культурах гранулярных клеток мозжечка.

С целью разработки новых мощных терапевтических средств при болезни Альцгеймера, способных модулировать все факторы, вероятно ответственные за начало заболевания авторами были сконструированы несколько производных N-пропаргиламина-NH и протестированы на ингибирующую активность в отношении агрегации  $A\beta$  и МАО [81]. Данное исследование показало, что

некоторые из протестированных соединений действительно проявляют высокую ингибирующую активность в отношении агрегации А $\beta$  и МАО и требуют дальнейшего изучения производных N-пропаргиламина-NX в качестве модифицирующих заболевание агентов.

Также стоит отметить терапевтическую роль витамина К при различных расстройствах, в основном сосредоточенных на неврологических расстройствах, включая упомянутую выше болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, нейровоспаление и рассеянный склероз [82].

Паракват представляет собой дихлорид N,N-диметил-4,4-дипиридилия, является высокотоксичным соединением, используемым в ряде стран в качестве сильнодействующего гербицида, а также при моделировании болезни Паркинсона. С целью повышения выживаемости клеток нейробластомы Нейро-2a *in vitro* моделях параквата при болезни Паркинсона проведен скрининг с использованием теста жизнеспособности нейрональных клеток при воздействии на них некоторых природных и синтетических производных 1,4-нафтохинона. В ходе данного исследования установлено, что пять наиболее активных производных 1,4-нафтохинона в достаточно низких концентрациях значительно защищают активность неспецифической эстеразы от ингибирующего действия нейротоксинов, защищают клеточные биомембраны от литического разрушения в присутствии параквата и нормализуют клеточный цикл, что в свою очередь свидетельствует об их нейропротекторных свойствах [83].

### **1.2.7 Цитотоксические и противораковые свойства**

Хиноновый фрагмент присутствует во многих лекарствах, использующихся в клинической практике при лечении раковых заболеваний, а именно таких как антрациклины, даунорубицин, доксорубицин, митомицин, митоксантроны и сентопин. Цитотоксический эффект этих производных хинона в первую очередь обуславливается следующими двумя факторами: ингибированием ДНК-топоизомеразы-II и образованием семихинонового радикала, который в свою очередь может передавать электрон кислороду с образованием супероксида, катализирующегося флавоферментами. В связи с этим поиск новых эффективных

и селективных противоопухолевых нафтохинонов имеет высокое значение. В ходе исследования биологических свойств производных 1,4-нафтохинона были синтезированы новые производные N- и S,S-замещенные-1,4-нафтохиноны. Среди этих соединений 2-[4-(2-фурил)пиперазин-1-ил]-3-хлор-1,4-нафтохинон и 2,3-бис(циклобутилсульфанил)-1,4-нафтохинон были идентифицированы как наиболее мощные противоопухолевые агенты с цитотоксической активностью в отношении трех линий раковых клеток: молочной железы, предстательной железы и толстой кишки [84]. Для применения соединений с уменьшенными побочными эффектами и улучшенной противораковой активностью были синтезированы два новых типа производных 1,4-нафтохинона, 2,3-дигидро-2,3-эпокси-2-пропилсульфонил-5,8-диметокси-1,4-нафтохинон и 2,3-дигидро-2,3-эпокси-2-нонилсульфонил-5,8-диметокси-1,4-нафтохинон, и оценена их противоопухолевая активность. Результаты данного исследования показали, что синтезированные соединения ингибируют пролиферацию клеточных линий рака печени, но не пролиферацию нормальных линий клеток печени, легких и желудка, что свидетельствует о возможности их дальнейшего применения в качестве противоопухолевых средств для лечения рака печени [85]. Также, синтезирована серия двух аминзамещенных производных 1,4-нафтохинона на основе принципа сплайсинга лекарств в качестве противораковых агентов. Ингибирующие активности данных соединений были протестированы в отношении четырех линий раковых клеток, а именно: рака предстательной железы, хронического миелоидного лейкоза, рака печени и немелкоклеточного рака легкого человека [86].

Новый подход к синтезу соединений подофиллотоксин-нафтохинона с использованием трехкомпонентных реакций с помощью микроволновой печи представлен в исследовании [87]. Наиболее мощное цитотоксическое действие было обнаружено у веществ 1-(3-метоксифенил)-4,11-дигидробензо[*g*]фуоро[3,4-*b*]хинолин-1,5,10(3*H*)-триона и 11-(3-нитрофенил)-4,11-дигидробензо[*g*]фуоро[3,4-*b*]хинолин-1,5,10(3*H*)-триона. Они обладают антипролиферативной активностью за счет зависящей от концентрации остановки клеточного цикла в фазе G2/M,

активации каспазы-3/7, а также апоптоза. Еще одна серия новых объединенных с нафтохиноном подофиллотоксинов, содержащих фтор- и трифторметильные заместители, была синтезирована и оценена на цитотоксичность в отношении нескольких линий раковых клеток человека таких как, карцинома человека, гепатоцеллюлярная карцинома человека, рак легкого, карцинома молочной железы и эмбриональная почка человека. Среди полученных соединений соединение 11-(4-(4-фторфенокси)фенил)-4,11-дигидробензо[g]фуоро[3,4-b]хинолин-1,5,10(3H)-трион оказалось наиболее мощным противоопухолевым средством со значительной цитотоксической активностью в отношении карциномы человека, гепатоцеллюлярной карциномы человека и карциномы молочной железы [88]. Эти предварительные результаты показали, что соединения подофиллотоксин-нафтохинона заслуживают дальнейшего изучения с целью разработки новых потенциальных противоопухолевых средств.

Значительная цитотоксическая активность менадиона (витамина К3) связана со способностью его хиноновой группы участвовать в окислительно-восстановительных реакциях с АФК. Однако эффективность АФК-опосредованного уничтожения опухолевых клеток может ограничиваться их адаптивными изменениями. Для преодоления данной проблемы эффективной тактикой служит комбинация прооксидантных соединений с агентами, нацеленными на преодоление критических фенотипических особенностей рака. К примеру, в исследовании описывается открытие митохондриально направленного агента (МитоК3), разработанного путем конъюгации катиона трифенилфосфония с положением С3 нафтохинонового кольца менадиона, что увеличивало его избирательное накопление в митохондриях и также приводило к изменению его окислительно-восстановительных свойств и последующему биологическому результату [89]. Вслед за вышеупомянутым исследованием было синтезировано производное 1,4-нафтохинона, конъюгированное с алкилтрифенилфосфонием. Согласно проведенным электрохимическим исследованиям новый 1,4-нафтохинон является более активным окислительно-восстановительным агентом из-за отсутствия метильной группы в нафтохиноновом кольце, а также более

реакционноспособным электрофилом, чем МитоК3 [90]. Также с помощью данного скрининга обнаружено соединение, а именно 2-хлор-3-[(2-морфолин-4-илэтил)амино]нафталин-1,4-дион, являющееся токсичным для широкого спектра раковых клеток, а также обладающее улучшенной противораковой токсичностью по сравнению с доксорубицином, витамином К3, и другими известными противораковыми хинонами [91]. Поскольку многие опухоли характеризуются повышенным окислительным стрессом, разработка и использование новых митохондриально-ориентированных прооксидантов является многообещающей стратегией противоопухолевой терапии.

Производные 1,4-нафтохинона обладают широким спектром биологической активности, и находят применение, как в народной, так и в научной медицине с незапамятных времен и по сегодняшний день. Наличие бактериостатического или бактерицидного действия на различные штаммы бактерий открывает перспективы как на дальнейшее изучение механизмов действия данных соединений, так и разработку новых лекарственных препаратов на фоне растущей резистентности патогенных организмов из-за широкого использования фармацевтических соединений в медикаментозном лечении. Благодаря наличию антиоксидантной активности, обусловленной окислительно-восстановительными свойствами данных соединений, производные 1,4-нафтохинона, могут стать ключевыми агентами в лечении заболеваний, спровоцированных окислительным стрессом, таких как нейродегенеративные заболевания, а также заболевания сердечно-сосудистой системы. Противовоспалительное действие данных соединений, также продолжает быть в центре исследований и создания лекарственных средств способствующих уменьшению воспалительных процессов в организме, что в свою очередь благоприятствует улучшению жизни людей, страдающих хроническими заболеваниями. Помимо этого, проявление цитотоксической активности некоторыми производными 1,4-нафтохинона, открывает новые возможности исследователям в онкологической терапии. Постоянный поиск и внедрение более эффективных, натуральных веществ или их полусинтетических производных,

обладающих менее высокой токсичностью, позволит не только значительно повысить качество жизни онкобольных пациентов, но и их шансы на выживание.

Дальнейшие исследования, проводимые в этой области, должны ограничиваться не только поиском или синтезом новых производных 1,4-нафтохинона, но и углубляться в понимание механизмов действия данных соединений на клеточном уровне. Данная стратегия позволит более выгодно разработать целенаправленные терапии для эффективного лечения различных заболеваний. Широкий спектр биологической активности данных соединений предполагает их последующее использование в разработке многопрофильных подходов к лечению и профилактике заболеваний, что в свою очередь подчеркивает необходимость их исследования и применения в клинической терапии.

### **1.3 Методы определения производных 1,4-нафтохинона**

Поскольку производные 1,4-нафтохинона являются важными органическими соединениями, обладающими значительной биологической активностью, их определение и количественный анализ имеют большое значение в таких областях как, химия, фармацевтика и экология. На сегодняшний день существует множество методов для идентификации и количественного измерения производных 1,4-нафтохинона, основными из которых являются спектральные методы (спектрофотометрия, флуориметрия), хроматография и электрохимические методы анализа, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки.

#### **1.3.1 Спектральные методы определения**

##### **1.3.1.1 Флуориметрия**

В работе [92] описывается флуориметрический метод исследования относительной интенсивности флуоресценции стандартных растворов лапахола и аналогичных концентраций лапахола, экстрагированных из воды и из сыворотки крови, основанный на превращении лапахола в частичном вакууме во флуоресцентный продукт путем восстановления его гидросульфитом натрия. Поскольку флуоресцентный продукт чувствителен к кислороду, авторы проводят

его экстракцию бензолом и определяют спектрофотометрически в ячейке, из которой предварительно убирают воздух. Извлечение лапахола при этом составляет  $(102 \pm 3)$  %. Зависимость между относительной интенсивностью флуоресценции и концентрацией лапахола является линейной, при этом концентрации лапахола в сыворотке могут быть обнаружены на уровне  $0,1 \text{ пг/см}^3$ .

О трех процедурах флуоресцентного анализа гидроксинафтохинонов также сообщается в исследовании [93]. Первая процедура, основанная на предварительном восстановлении дитионита натрия и определении флуорофора в бутилацетате, применима ко всем исследованным гидроксинафтохинонам. Второй метод, более специфичный и используется для анализа 5-гидрокси-1,4-нафтохинонов (ряд юглонов), включает тепловое восстановление хлоридом двухвалентного олова в кислой среде и определение флуорофора в хлороформе. Третий метод, основанный на реакции Гильбо и Крамера, применим к 5-гидрокси- и 5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинонам, имеющим оба свободных хиноноидных положения.

Авторами в работе [94] описан спектрофлуориметрический метод определения витамина К3 (менадиона). Поскольку это соединение естественно не флуоресцирует, авторы проводили предварительное восстановление витамина К3 с использованием  $\text{SnCl}_2$ , стабилизированного в глицерине, для получения восстановленного флуоресцентного продукта (нафтогидрохинон). Флуоресцентный отклик ( $\lambda_{\text{ex}} = 334 \text{ нм}$ ;  $\lambda_{\text{em}} = 427 \text{ нм}$ ) был линеен в диапазоне до  $180 \text{ мкг/дм}^3$  с пределом обнаружения  $0,62 \text{ мкг/дм}^3$  и пределом определения  $2,06 \text{ мкг/дм}^3$ . Метод был апробирован на коммерческих препаратах, и показал достаточно хорошие результаты, к примеру, степень извлечения во всех случаях варьировалась от 104,4 до 98,92 %, также отмечено отсутствие влияния мешающих компонентов таких как фолиевая кислота, пиридоксамин и аскорбиновая кислота.

В работе [95] для определения лапахола, природного нафтохинона, обнаруженного в растениях рода *Tabebuia* семейства *Bignoniaceae* в водной дисперсии, использовали флуоресцентные зонды, состоящие из 3-меркаптопропионовой кислоты и люминесцентных полупроводниковых

квантовых точек, которые представляют собой наночастицы CdTe (ЗМКП-CdTe). Полученный линейный диапазон составляет от 10 до 100 мкмоль/дм<sup>3</sup>. Предел обнаружения данной методики составил 8,0 мкмоль/дм<sup>3</sup>. Зонд ЗМКП-CdTe был испытан при определении лапахола в моче, предварительно очищенной в акриловом полимере.

Флуориметрия является эффективным инструментом для определения производных 1,4-нафтохинона благодаря своей высокой чувствительности, специфичности и скорости анализа. Тем не менее, необходимо учитывать ограничения метода, такие как, изменение флуоресценции в зависимости от состава матрицы образца, вероятность потери чувствительности при наличии других флуоресцентных или абсорбирующих веществ в образце, потребность в проведении регулярной калибровки прибора с использованием стандартных образцов, а также ограничение в предоставлении информации о структуре исследуемых соединений.

### 1.3.1.2 Спектрофотометрия

В работе [96] проведено количественное определение производных шиконина (дезоксисиконин,  $\beta$ ,  $\beta$ -диметилакрилшиконин и ацетилшиконин), выделенных из корней *O. nigricaulis*, с использованием УФ-видимого спектрофотометрического метода. Выделенные производные шиконина показали три максимума при 493 нм, 523 нм и 562 нм.

Разработан спектрофотометрический метод определения менадиона и менадиона натрия гидросульфита в фармацевтических субстанциях и в растворе для инъекций [97]. Данный метод основан на измерении интенсивности фиолетовой окраски ( $\lambda = 540$  нм), возникающей при реакции менадиона с тиосемикарбазидом в щелочной среде. Закон Бугера-Ламберта-Бера выполняется в диапазоне концентраций 4-40 мкг/см<sup>3</sup> ( $R^2 = 0,9995$ ). Этот метод отличается простотой, чувствительностью и особенно подходит для рутинного анализа официальных инъекций менадиона натрия бисульфита.

Еще один простой, селективный и чувствительный спектрофотометрический метод разработан для определения менадиона (или менадиона натрия бисульфита)

в массовых образцах и фармацевтических препаратах, он основывается на реакции продукта его восстановления с гидрозоной 3-метил-2-бензотиазолинона (МБТГ) в присутствии хлорида железа, при которой возникает интенсивная синяя окраска с максимальным поглощением при  $\lambda = 650-670$  нм. Данный метод позволяет определить менадион в концентрациях 0,6-7,5 мкг/см<sup>3</sup>, при этом степень извлечения составляет 99 %, а стандартное отклонение 1,7 % [98].

Также модифицированный спектрофотометрический метод определения лавсона в листьях хны представлен в работе [99]. В соответствии с методикой, измельченные листья хны подвергали мацерации в насыщенном растворе Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Фильтрат экстрагировали бинарной смесью этанол:хлороформ (1:1 по объему). Объединенные органические экстракты концентрировали выпариванием на водяной бане. Сухой экстракт растворяли в 20 % водном растворе карбоната натрия, после чего проводили спектрофотометрическое измерение оптической плотности полученного раствора на длине волны 510 нм. С помощью описанного метода можно точно измерить концентрацию лавсона от 20 до 100 мкг/см<sup>3</sup>.

Спектрофотометрический метод, несомненно, обладает рядом преимуществ, такими как высокая скорость анализа, простота и доступность. Однако, не может быть применен для сложных смесей, где присутствуют несколько компонентов с близкими спектрами поглощения, что свидетельствует об ограниченной селективности, кроме того, необходимо также учитывать влияние растворителей, а также производить тщательную пробоподготовку компонентов матрицы системы, которые могут затруднить интерпретацию результатов.

### 1.3.2 Хроматографические методы

Метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) был разработан для количественного определения и проверки наличия плюмбагина в хорошо известном лекарственном растении *Plumbago zeylanica* L. (обычно называемом читрамулой и читраком) традиционно используемом для лечения различных заболеваний в Индии и других странах и описан в работах [100, 101]. В работе [100] в качестве подвижной фазы для достижения хорошего разделения плюмбагина использовали толуол-этилацетат (9:2 объемные значения).

Денситометрическое определение плюмбагина проводилось при 270 нм в режиме отражения/абсорбции; градуировочные кривые линейны в диапазоне 100–600 нг/пятно. Преимуществами данного метода является специфичность, точность, простота, а также возможность использования для надлежащей стандартизации растения. В работе [101] хроматографическое разделение проводили на предварительно покрытых силикагелем пластинах F254. Подходящая подвижная фаза толуол–уксусная кислота (9,0:0,5 объемные значения) была разработана для расширения пластин, разделяющих компоненты по маркерным соединениям. Денситометрическое сканирование измеряли при длине волны 272 нм. Маркерные соединения практически разрешались с RF  $0,44 \pm 0,02$  для плюмбагина. Кроме того, был оценен, антиоксидантный потенциал метанольного экстракта *P. zeylanica* с помощью 1,1-дифенил-2-пикрилгидразида с использованием ультрафиолетового (УФ) спектрофотометра. Было обнаружено, что процентное ингибирование свободных радикалов составляет 76,5 %. Разработанный метод ВЭТСХ прошел валидацию на точность, линейность, прецизионность и специфичность.

Метод ВЭЖХ с обращенной фазой был разработан для идентификации и количественного определения девяти природных хиноновых красителей и применен к историческим текстильным волокнам [102]. Для разработки данного метода использовалась колонка Purospher RP18e с выпуклым градиентом метанола в подвижной фазе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> водного цитратного буфера (pH 2,5) и спектрофотометрическим детектированием с помощью диодной матрицы при 270 нм. Для идентификации ализарина, пурпурина и ксантопурпурина, совместно встречающихся в марене, использовался изократический метод с использованием в качестве подвижной фазы метанол-0,2 моль/дм<sup>3</sup> ацетатного буфера (pH 4,3) (75:25). После кислотной экстракции текстильных волокон и анализа экстрактов были идентифицированы и количественно определены ализарин и пурпурин в трех волокнах. Еще один метод ВЭЖХ с обращенной фазой был разработан и утвержден для количественного определения нафтохинонов, присутствующих в надземных частях растения недотроги (*Balsaminaceae*) [103].

Также для одновременного количественного определения восьми производных нафтохинона, а именно шиконина, ацетилшиконина, дезоксишиконина,  $\beta$ -ацетоксиизовалерилшиконина, изобутилшиконина,  $\beta,\beta$ -диметилакрилшиконина, 2-метил-н-бутирилшиконина и изовалерилшиконина у девяти видов семейства *Boraginaceae* был разработан метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием диодной матрицы [104]. Кроме того, в настоящем исследовании впервые были успешно разделены и количественно определены два позиционных изомера, 2-метил-н-бутирилшиконин и изовалерилшиконин. Данный метод количественного определения нафтохинонов отличается высокой воспроизводимостью и подходит для количественного определения нафтохинонов во всех родственных растениях *Boraginaceae* в целях оценки качества сырья.

Еще одно исследование описывает одновременный количественный анализ наиболее часто встречающихся нафтохинонов (1,4-нафтохинон, лавсон, юглон и плюмбагин) с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с детектором с диодной матрицей [105]. Хроматографические условия определения были следующие: подвижная фаза: 0,1 моль/дм<sup>3</sup> уксусная кислота: метанол в соотношении 33:67 (% , объемные значения), скорость потока: 0,75 мл/мин и температура: 42 °С. Извлечение определяемых нафтохинонов составило от 96 до 104 %. Авторы отмечают высокую воспроизводимую и чувствительность разработанной методики количественного определения.

Также оптимизированный метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с детектором с диодной матрицей для количественного определения нафтохинонов (1,4-нафтохинон, лавсон, юглон и плюмбагин) был разработан авторами [106]. Оптимизированный метод впоследствии был использован для определения указанных нафтохинонов в растительном образце (*Dionaea muscipula*).

В работе [107] был разработан метод дериватизации для обнаружения производных хинона с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, ионизации с электрораспылением и тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-ЭСИ-

МС/МС). При данном подходе благодаря ведению меток (метокси) в хинонные структуры, значительно улучшается эффективность ионизации пяти хинонов (п-бензохинон (БХ), метил-п-бензохинон (МБХ), 1,4-нафтохинон (1,4-НХ), 1,2-нафтохинон (1,2-НХ) и 1,4-антрахинон (АХ)). При этом доказано, что предел обнаружения (LOD) для определения хинонов, можно гибко регулировать, изменяя для этого время реакции или состав растворителя. При использовании метанола в качестве реагента для дериватизации были достигнуты более низкие значения предела обнаружения. Предложенный метод был успешно использован для определения хинонов во взвешенных частицах в воздухе.

Для одновременного определения шиконина, изобутирилшиконина,  $\beta,\beta'$ -диметилакрилалканина в плазме гончих разработан быстрый, простой и эффективный метод ВЭЖХ-ЭСИ-МС/МС [108]. Метод был проверен на селективность, линейность, нижний предел количественного определения, прецизионность, правильность, извлечение, матричный эффект и стабильность. Все параметры валидации соответствовали критериям приемлемости в соответствии с нормативными требованиями. Этот метод был успешно применен для изучения фармакокинетики шиконина, изобутирилшиконина,  $\beta,\beta'$ -диметилакрилалканина в плазме гончих собак после перорального введения экстракта *A. euchroma*.

Разработан метод ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии (УВЭЖХ), который был апробирован и применен для количественного определения 1,4-нафтохинона в *E. Palmifolia* [109]. 1,4-нафтохинон представляет собой биоактивное соединение из *E. palmifolia*, которое может использоваться в качестве лекарственного ингредиента, при разработке противораковых средств. УФ-детектирование проводилось при длине волны 254 нм и времени анализа 0,8 минуты. Подвижная фаза состояла из 95 % метанола и 0,5 % хлороформа. Отклик стандартного 1,4-нафтохинона линейный в диапазоне концентраций 3,0-21,0 мкг/см<sup>3</sup> с  $R^2=0,9951$ . Точность этого метода составила 99,95 %.

Хроматография остается одним из основных методов анализа производных 1,4-нафтохинона благодаря своей высокой чувствительности и

многофункциональности. Однако, несмотря на свои преимущества хроматографический метод анализа имеет ряд значительных недостатков, таких как сложность подготовки анализируемых образцов, высокая стоимость оборудования, а также длительное время анализа.

### 1.3.3 Электрохимические методы

Электрохимические методы анализа, такие как вольтамперометрия, циклическая вольтамперометрия, полярография, потенциометрия, импедансная спектроскопия, обладают рядом преимуществ, которые делают их особенно подходящими для анализа производных 1,4-нафтохинона. Во-первых, высокая чувствительность этих методов позволяет детектировать низкие концентрации исследуемых соединений в сложных матрицах, что является критически важным для анализа объектов, используемых в экологических и фармацевтических исследованиях. Во-вторых, быстрота и простота анализа значительно сокращают время, необходимое для получения результата. Простота в использовании электрохимических методов способствует их распространенности, так как многие из них не требуют сложной предварительной пробоподготовки. Возможность прямого анализа в растворах без усложнения процесса значительно расширяет области применения этих методов. Кроме того, экологическая безопасность электрохимических подходов, благодаря использованию меньшего количества исследуемых образцов и токсичных реагентов, а также легкость автоматизации современных электрохимических установок дополнительно повышают их привлекательность.

Вдобавок к предшествовавшему, многофункциональность электрохимических методов позволяет не только исследовать окислительно-восстановительное поведение, но и получать дополнительную информацию о структуре и динамике процессов, связанных с производными 1,4-нафтохинона. В частности, циклическая вольтамперометрия позволяет отслеживать изменения в окислительно-восстановительных состояниях соединений, что в свою очередь позволяет оценивать их реакционную способность, а также возможность взаимодействия с другими компонентами системы. Эти данные могут быть

использованы для понимания механизмов действия производных 1,4-нафтохинона в биологических системах.

Большой спектр работ посвящен электрохимическому определению шиконина, который широко используется в качестве противоопухолевого агента. К примеру, в работе [110] для высокочувствительного анализа шиконина в фосфатном буферном растворе (ФБР) используется стеклоуглеродный электрод (СУЭ), модифицируемый композитным материалом ПЭДОТ:ПСС- $\beta$ -ЦД-УНТ-СООН полученным с использованием, поли(3,4-этилендиокситиофена): поли(4-стиролсульфоната) (ПЭДОТ:ПСС),  $\beta$ -циклодекстрина ( $\beta$ -ЦД) и карбоксилированных одностенных углеродных нанотрубок (УНТ-СООН). Используемый модификатор ПЭДОТ: ПСС- $\beta$ -ЦД-УНТ-СООН обладает высокой чувствительностью к шиконину, при этом линейный диапазон определения шиконина составляет от 6 нмоль/дм<sup>3</sup> до 30 мкмоль/дм<sup>3</sup> с пределом обнаружения 1,8 нмоль/дм<sup>3</sup>.

Также стоит отметить простой и чувствительный метод электрохимического определения шиконина, основанный на его электрохимическом окислении на наноструктурированном электроде из поли(гидроксиметил-3,4-этилендиокситиофена) (ПЭДОТ-МеОН), изготовленном легким методом электрополимеризации [111]. По сравнению с неизолированным электродом и электродом из поли-3,4-этилендиокситиофена (ПЭДОТ) пленка ПЭДОТ-МеОН проявляла заметно более высокую активность в отношении электроокисления шиконина. Электрод модифицированный ПЭДОТ-МеОН показал широкий линейный отклик для определения шиконина в диапазоне концентраций от 1 нмоль/дм<sup>3</sup> до 10 мкмоль/дм<sup>3</sup> с пределом обнаружения 0,3 нмоль/дм<sup>3</sup>. Кроме того, электрод ПЭДОТ-МеОН показал высокую стабильность, хорошую воспроизводимость и высокую чувствительность для обнаружения шиконина.

Электрохимическое поведение противоопухолевого растительного препарата шиконина исследовано авторами при помощи таких методов как, циклическая вольтамперометрия, квадратно-волновая вольтамперометрия и хронокулонометрия на стеклоуглеродном электроде в буферном растворе

0,16 моль/дм<sup>3</sup> уксусной кислоты и ацетата натрия (20 % этанола, рН 3,98) [112]. Методом абсорбционно-контролируемого процесса при скорости сканирования 100 мВ/с установлено, что шиконин дает пару квазиобратимых окислительно-восстановительных пиков при потенциалах  $E_{pc} = 0,698$  В и  $E_{pa} = 0,632$  В. Также были исследованы параметры динамики электродного процесса (количество насыщенной адсорбции, коэффициент переноса заряда  $\alpha$  и кажущаяся константа скорости  $K_s$ ) и механизм реакции с участием двух электронов и двух ионов водорода в электродной реакции. Условия эксперимента были оптимизированы для определения шиконина, а анодные пиковые токи прямоугольной формы были линейно связаны с концентрациями шиконина в диапазоне от 20,8 нмоль/дм<sup>3</sup> до 1,82 мкмоль/дм<sup>3</sup> с коэффициентом корреляции 0,998 и пределом обнаружения 7,8 нмоль/дм<sup>3</sup>. По установленной методике удалось определить шиконин в фитопрепарате Gromwell Root без предварительной обработки и предварительного разделения с удовлетворительным результатом.

Также простой и чувствительный электроаналитический метод определения шиконина, на композитном СУЭ модифицированном многослойными углеродными нанотрубками функционализированными  $\beta$ -циклодекстрином (МУНТ/  $\beta$ -ЦД/СУЭ) разработан и описан в работе [113].  $\beta$ -ЦД водорастворим и безвреден для окружающей среды и может улучшать диспергируемость функциональных материалов МУНТ/  $\beta$ -ЦД, что было подтверждено с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Электрохимическое поведение шиконина исследовалось методами циклической вольтамперометрии (ЦВА) и дифференциальной импульсной вольтамперометрии (ДИВ) на разных электродах. Полученные результаты показали, что токи окислительно-восстановительного пика шиконина, полученные на МУНТ/ $\beta$ -ЦД/СУЭ, были намного выше, чем на  $\beta$ -ЦД/СУНТ и МУНТ/СУЭ, что можно объяснить сочетанием превосходных электрокаталитических свойств МУНТ и способностью  $\beta$ -ЦД к молекулярному распознаванию. При использовании модификатора МУНТ/  $\beta$ -ЦД/СУЭ ток отклика шиконина линеен в диапазоне концентраций 5 до 10 нмоль/дм<sup>3</sup> с пределом обнаружения 1 нмоль/дм<sup>3</sup>. По данному методу было проведено количественное

определение содержания шиконина в образцах мочи с удовлетворительными результатами.

Разработан еще один простой и высокочувствительный вольтамперометрический метод определения содержания шиконина в синтетических и реальных образцах основанный на использовании углероднопастового электрода (УПЭ), модифицированного сепиолитовой глиной, наночастицами  $TiO_2$  и многослойными углеродными нанотрубками (МУНТ) [114]. Электрохимические окислительно-восстановительные свойства шиконина были исследованы с помощью циклической вольтамперометрии (ЦВ) а также метода дифференциальной импульсно-адсорбционной инверсионной вольтамперометрии (АдсДПВ). Анодный пиковый ток шиконина изменялся линейно в диапазоне концентраций 0,44–1000 нмоль/дм<sup>3</sup>. Пределы обнаружения и количественного определения были определены как 0,13 нмоль/дм<sup>3</sup> и 0,44 нмоль/дм<sup>3</sup> соответственно. Данный вольтамперометрический метод был практически применен для анализа шиконина в образцах мочи и сыворотки крови человека, с удовлетворительными результатами.

Еще одна работа посвящена исследованию и количественному определению шиконина на СУЭ модифицированном поли(диаллилдиметиламмонийхлоридом) (ПДДА) функционализированном на графеновом листе (ПДДА-ГЛ/СУЭ) [115]. Шиконин демонстрирует пару хорошо выраженных окислительно-восстановительных пиков на (ПДДА-ГЛ/СУЭ), расположенных при 0,681 В ( $E_{pa}$ ) и 0,662 В ( $E_{pc}$ ) (отн. насыщенного каломельного электрода (НКЭ)) в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> фосфатном буферном растворе (рН=2,0) с разделением между пиками около 20 мВ, что свидетельствует о быстром процессе переноса электронов. В рабочих условиях ток измеренный с помощью метода дифференциальной импульсной вольтамперометрии (ДПВ) линейно возрастал с увеличением концентрации шиконина в диапазоне от 94,72 нмоль/дм<sup>3</sup> до 3,789 мкмоль/дм<sup>3</sup> с пределом обнаружения 31,57 нмоль/дм<sup>3</sup>. Кроме того, необходимо отметить, что модифицированный стеклоуглеродный электрод используемый в работе, показал хорошую стабильность, селективность и приемлемую воспроизводимость

следовательно, может быть в дальнейшем использован для чувствительного, простого и быстрого определения шиконина в реальных образцах.

Авторами [116] изучено электрохимическое восстановление  $\alpha$ -лапахона,  $\beta$ -лапахона,  $\beta$ -лапахон-3-сульфоновой кислоты и 3-бром- $\beta$ -лапахона методами циклической вольтамперометрии, прямоугольной и дифференциальной импульсной вольтамперометрии в смешанных этанольных (20 %) водных буферных средах (рН 4,5) с использованием СУЭ. Данный электрохимический метод позволяет изучить стабильность хинонов после восстановления, а также дать количественную характеристику содержания хинонов в растворе, что придает этому методу дополнительное преимущество.

В работе [117] для определения лапахола применялся метод прямоугольной анодной вольтамперометрии с использованием лабораторного графито-эпоксидного электрода. Катионное поверхностно-активное вещество улучшило диффузию и взаимодействие анализируемого вещества с электродом, вызывая обратимый процесс, который улучшал общий ток, измеряемый с помощью прямоугольной анодной вольтамперометрии. По данному методу проводили определение лапахола в спиртовом экстракте сердцевины *Tabebuia impetiginosa* после простого тонкослойного хроматографического разделения аналита от компонентов комплексной пробы. Результаты совпали (с доверительной вероятностью 95 %) с результатами, полученными при использовании высокоэффективной жидкостной хроматографии с абсорбциометрическим детектированием.

Новый электроаналитический метод определения филлохинона (витамина K1), присутствующего в образцах пищевых продуктов растительного происхождения разработан авторами в работе [118]. Представленный метод основан на адсорбционном накоплении данного биологически активного соединения на поверхности СУЭ с последующим электрохимическим детектированием методом прямоугольной адсорбционной инверсионной вольтамперометрии в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> HCl. Два линейных диапазона определения филлохинона: 0,01–1 мкмоль/дм<sup>3</sup> и 5–100 мкмоль/дм<sup>3</sup> с пределами обнаружения 8,9

и  $51 \text{ нмоль/дм}^3$  соответственно. Полученные результаты показали, что прямоугольная вольтамперометрия с адсорбционной стадией накопления является очень чувствительным методом определения витамина К1, сравнимым со стандартным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии для анализа пищевых продуктов.

Кроме того, в литературе представлено достаточное количество электрохимических методик определения трициклических антрациклиновых противоопухолевых агентов, содержащих в своей структуре фармакофорную часть структуры шиконина (5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинон (нафтазарин)), таких как доксорубицин и даунорубицин [119–123].

Дифференциально-импульсный полярографический метод определения трех фармакологически активных 5-гидрокси-нафтохинонов в фитопрепаратах, содержащих *Drosera*, доступных на австрийском рынке описан в работе [124]. Полярографическое поведение плюмбагина, 7-метилюглона и дрозерона исследовали в различных буферных системах в диапазоне pH от 3,5 до 10,0. Соединения подвергались процессу восстановления с одним обратимым пиком на капельном ртутном электроде. Дифференциальные импульсные полярограммы нафтохинонов показали отчетливые пики в растворе ацетата натрия/буфера уксусной кислоты. Полярографическим методом проведено количественное определение этих нафтохинонов в трех фитопрепаратах.

На основании вышеизложенного, можно сделать заключение не только об эффективности, но и незаменимости применения электрохимических методов в качестве инструментов для анализа и определения производных 1,4-нафтохинона в исследовательской практике. Их многофункциональность и адаптивность обеспечивают широкие возможности для будущих исследований производных 1,4-нафтохинона и способствуют улучшению понимания химических и биологических свойств данных соединений. Применение электрохимических методов имеет решающее значение для фундаментального изучения и возможностей практического применения данных соединений в медицинской практике. Поэтому дальнейшие исследования, направленные на оптимизацию и

расширение применения электрохимических методов, будут способствовать не только улучшению аналитических характеристик, но и прогрессу в разработке новых противораковых и антиоксидантных препаратов что в свою очередь, подчеркивает важность электрохимии как ведущего направления в современных научных исследованиях.

## ГЛАВА 2. АППАРАТУРА И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

### 2.1 Приборы, электроды, ячейки, посуда

*Приборы.* В данной работе экспериментальные электрохимические измерения выполнялись на вольтамперометрическом анализаторе TA-Lab (ООО НПП «Томьаналит», г. Томск, Российская Федерация), оснащенный выносной электрохимической ячейкой и подключенном к персональному компьютеру.

Процесс перемешивания анализируемых растворов в электрохимических ячейках вольтамперометрического анализатора TA-Lab с выносной ячейкой осуществляется путем стабилизированной вибрации рабочих электродов. Наличие выносной ячейки позволяет проводить исследование в разных условиях и упрощает процесс замены анализируемых образцов.

Во избежание влияния кислорода осуществлялась деаэрация растворов путем барботажа газообразного азота (из баллона) через силиконовый шланг. Данная процедура позволяет обеспечить инертную атмосферу, что в свою очередь способствует минимизации окислительных процессов и повышению точности получаемых результатов.

Спектрофотометрические измерения выполняли на приборе Agilent Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, США), подключенном к ПК. Аппарат работает в диапазоне 190–1100 нм со скоростью сканирования до 24000 нм/мин, обеспечивая воспроизводимость длин волн  $\pm 0.1$  нм и точность установки  $\pm 0.5$  нм. Фотометрический диапазон: 3.3 А.

ИК-Фурье спектры синтезированных соединений регистрировали на спектрометре Agilent Cary 660 (Agilent Technologies, США).

Электрохимические исследования методом импедансной спектроскопии проводили с использованием потенциостата-гальваностата PalmSens 4 (PalmSens B.V., Нидерланды).

Морфологию поверхности рабочего электрода анализировали на сканирующем электронном микроскопе JSM-7500FA (JEOL, Япония).

Оборудование подготавливали и контролировали согласно руководствам производителей.

Значения pH определяли и регулировали с помощью pH-метра/иономера «ИТАН» (ООО НПП «Томьаналит», Томск).

Точное взвешивание выполняли на аналитических весах ВЛ-210 («Госметр», Россия; погрешность  $\pm 0.0002$  г).

Дистиллированную воду получали на установках: «Аквадистиллятор ДЭ-4» («ЭМО», Россия), Milli-Q Advantage A10 и Millipore Direct-Q3 UV.

Для изготовления таблеток из KBr использовался ручной пресс с набором пуансонов диаметром 1,3; 7 мм (производства Pike Technologies, США).

Для проведения процессов перемешивания и растворения использовали лабораторную микроцентрифугу MPW-55 (MPW Med. instruments, Польша; диапазон скоростей 300–14000 об/мин) и универсальный шейкер-термостат BioShake IQ (Q.Instruments, Германия) для работы с микропланшетами, пробками и виалами.

Ход реакций контролировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах F254 (Merck) с детектированием в УФ-свете.

Температуры плавления определяли на капиллярном аппарате Mel-Temp. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance III HD (частоты:  $^1\text{H}$  400 МГц,  $^{13}\text{C}$  100 МГц,  $^{19}\text{F}$  376.308 МГц).

Клеточные линии культивировали в  $\text{CO}_2$ -инкубаторе CB-170 (Binder, Германия) с горячевоздушной стерилизацией и термостерилизуемым сенсором  $\text{CO}_2$ . Клетки подсчитывали на автоматическом счетчике Countess 2FL (Thermo Fisher Scientific, США). Для посева применяли стерильные планшеты (SPL Life Sciences, Южная Корея). Жизнеспособность клеток оценивали по оптической плотности растворов, измеренной на планшетном фотометре Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, США).

Цитофлуориметрические измерения проводились на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США).

*Электрохимические ячейки и электроды.*

В качестве электрохимической ячейки использовались сменные стаканчики из кварцевого стекла объемом 20 см<sup>3</sup>, которые устанавливались на платформу магнитной мешалки.

В качестве индикаторного (рабочего) электрода использовался импрегнированный дисковый графитовый электрод (ИМГЭ) производства ООО «ЮМХ» (Томск, Россия), спектроскопический графитовый стержень которого диаметром 5 мм пропитан расплавленным парафиновым воском. Перед использованием электрода осуществлялась механическая чистка его торцевой поверхности о фильтр обеззоленный «Синяя лента» в течение 30 секунд.

При оценке антиоксидантной активности в качестве индикаторного (рабочего) электрода использовался ртутно-пленочный электрод.

В качестве электрода сравнения, а также вспомогательного электрода в данной работе применялись хлорид-серебряные электроды (ХСЭ), представляющие собой полые цилиндры, заполненные насыщенным раствором хлорида калия (KCl), с опущенной в него серебряной проволокой, покрытой труднорастворимой солью хлорида серебра. Вновь приготовленные ХСЭ предварительно выдерживались в течение 8 часов в насыщенном растворе KCl (молярная концентрация составляла моль/дм<sup>3</sup>) с целью установления равновесного значения потенциала. Готовые электроды хранились в насыщенном растворе KCl и ополаскивались перед проведением эксперимента дистиллированной водой.

#### *Посуда.*

В работе использовалась следующая мерная лабораторная стеклянная посуда: цилиндры вместимостью 10,0 и 20,0 см<sup>3</sup>, мерные колбы, объемом 25, 50, 100 см<sup>3</sup>, мерные пипетки вместимостью 1,0, 2,0, 5,0 и 10,0 см<sup>3</sup>.

Добавки исследуемых объектов производились при помощи одноканальных механических дозаторов типа «Колор» ВК44759 с объемом дозирования 0,02–0,20 см<sup>3</sup> (производства «Ленпипет», Россия), TheroScientific BP59599 с объемом дозирования 0,001–0,010 см<sup>3</sup> (производства «Ленпипет», Россия) с дискретностью установки доз 1,0 см<sup>3</sup> и точностью отбора  $\pm 0,0004$  см<sup>3</sup>,  $\pm 0,00014$  см<sup>3</sup> и  $\pm 0,00009$  см<sup>3</sup>, соответственно.

Чистота лабораторной посуды была критически важна в данном исследовании. Для каждой новой пробы производных 1,4-нафтохинона применяли сменные наконечники дозатора. Кварцевые стаканы последовательно очищали этанолом и дистиллированной водой. Чистоту системы контролировали двумя методами:

Вольтамперометрия: перед серией экспериментов регистрировали вольтамперограмму фонового электролита («холостой тест»). Отсутствие пиков в катодной и анодной областях подтверждало чистоту посуды и электролита.

Спектрофотометрия: аналогичный «холостой тест» выполняли в растворе сравнения. Отсутствие посторонних пиков поглощения на спектре свидетельствовало о чистоте посуды и раствора сравнения.

## 2.2 Реактивы

В работе использовались следующие реактивы и стандартные вещества:

- 2,3-дихлор-1,4-нафтохинон, 98 % (fluorochem, Хэдфилд, Великобритания);
- 4-аминофенол, 98 % (Alfa Aesar, Китай);
- имидазола, 99,5 % (SigmaAldrich, Германия);
- *трет*-бутилдиметилхлорсилан TBSCl, 99 % (SigmaAldrich, Германия);
- натрия хлорид, х.ч. (ГОСТ 4233-77, Реахим, Россия);
- сульфат натрия (натрий сернокислый безводный), ч.д.а (ГОСТ 166-76, Реахим, Россия);
- 1,1'-сульфонилдиимидазол (SDI), 99% (AK scientific, США);
- фторид калия, 99,5 % (SigmaAldrich, Германия);
- DBU, 99 % (SigmaAldrich, Швейцария);
- муравьиная кислота, 98 % (SigmaAldrich, Германия);
- дихлорметан, х.ч. (ТУ 20.14.14-295-44493179-2022, Вектон, Россия);
- хлороформ (трихлорметан), х.ч. (ТУ 2631-066-44493179-01, ЭКОС, Россия);
- вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72);

- калий хлористый, х.ч. (ГОСТ 4234-77, Уралкалий, Россия);
- спирт этиловый, 95 % (ГОСТ Р 51723-2001, АО «Кемеровская фармацевтическая фабрика»);
- натрий гидроокись, х.ч. (ГОСТ 4328–77, Лабтех, Россия);
- калия (III) гексацианоферрат, х.ч. (ГОСТ 4206-75, ЛенРеактив, Россия);
- натрий хлористый, х.ч. (ГОСТ 4233–77, ЛенРеактив, Россия);
- лактоза моногидрат,  $\geq 99$  % (SigmaAldrich, Германия);
- натрий уксуснокислый 3-водный (ацетат натрия), ч.д.а. (ГОСТ 4233–77, ЛенРеактив, Россия);
- аскорбиновая кислота, ч.д.а. (ЛенРеактив, Россия);
- глюкоза кристаллическая, ч.д.а. (ГОСТ Р 70295–2022, Вектон, Россия);
- стандарт-титр тип 4 рН 6,86 (ГОСТ 8.135–2004, Уралхиминвест, Россия);
- перхлорат натрия (натрий хлорнокислый безводный), 98% (SigmaAldrich, Германия);
- N, N-диметилформамид, х.ч. (ГОСТ 20289-74; ЭКОС-1, Россия);
- соляная кислота, х.ч. (ГОСТ 3118-77, «Сигма Тек», Россия);
- серная кислота, х.ч. (ГОСТ 4204-77, ЭКОС-1, Россия);
- перекись водорода, 35 % (ГОСТ 177-88, Паритрейд, Россия);
- калия гидроокись, х.ч. (ГОСТ 24363-80, Лабтех, Россия);
- кислота золотохлористоводородная, х.ч. (ТУ 2612-025-00205067-2003, Аурат, Россия);
- N-ацетил-L-цистеин, 98 % (Acros Organics, США);
- клеточные линии РС-3 (аденокарцинома простаты), SKOV-3 (рак яичников), MCF-7 (рак молочной железы) (ООО «ПраймБиоМед», Москва, Россия);
- DMEM (Gibco, Биллингс, штат Монтана, США);
- 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия бромид (МТТ, ООО «ПанЭко», Москва, Россия);

- диметилсульфоксид, х.ч. (ТУ 2635-114-44493179-08, ООО «ПанЭко», Москва, Россия);
- набор Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit (Abcam, Великобритания);
- набор Cell-lular ROS Assay Kit (Abcam, Великобритания).

### 2.3 Объекты исследования

Исследуемое соединение 2,3-дихлор-1,4-нафтохинон (NQ), известное также под торговыми названиями «Дихлон» и «Фигон», выступает в роли фунгицида. Оно используется для обработки фруктов, овощей, полевых культур, декоративных растений и семян. Кроме того, NQ является важным синтетическим материалом в химии для производства новых производных 1,4-нафтохинона с различными фармакологическими эффектами, благодаря своей доступности и высокой стабильности [125–127].

На основе NQ синтезированы новые производные 1,4-нафтохинона, обладающие предположительно цитотоксической активностью, а именно 2-хлор-3-((4-гидроксифенил)амино)-1,4-нафтохинон (NQ1) и 4-((3-хлор-1,4-нафтохинон-2-ил)амино)-фенилфторсульфонат (NQS) (рисунок 2) [128–129].

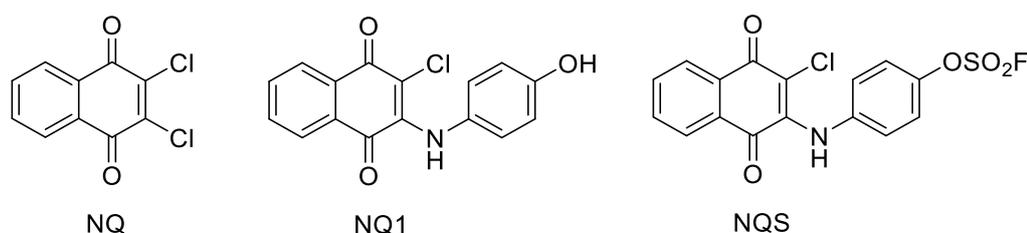


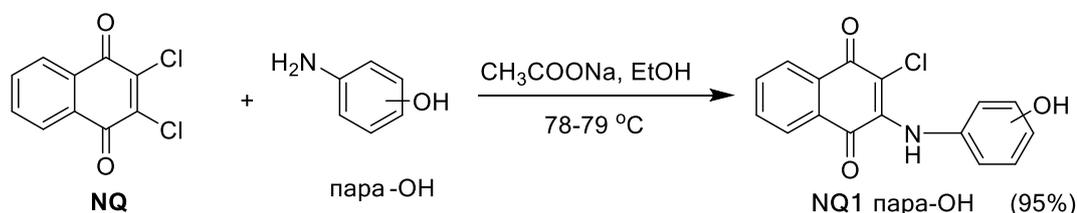
Рисунок 2 — NQ – 2,3-дихлор-1,4-нафтохинон; NQ1 – 2-хлор-3-((4-гидроксифенил)амино)-1,4-нафтохинон; и NQS – 4-((3-хлор-1,4-нафтохинон-2-ил)амино)-фенилфторсульфонат

#### 2.3.1 Синтез производных 1,4-нафтохинона

Для исследований было получено производное 1,4-нафтохинона, 3-хлор-2-((4-гидроксифенил)амино)-1,4-нафтохинон (NQ1) (Схема 1) по одной из наиболее известных методик, где 2,3-дихлоро-1,4-нафтохинон использовался в качестве исходного субстрата [130]. Полученное производное демонстрирует

противораковую биологическую активность [131], а наличие гидроксильной группы в его структуре открывает возможности для дальнейшей функционализации с использованием реакции SuFEx.

Схема 1



Предварительное силилирование гидроксильной группы способно повышать эффективность SuFEx-реакции [132]. Это объясняется прочностью связи Si-F (энергия диссоциации  $\sim 135$  ккал·моль<sup>-1</sup> [133]), облегчающей получение целевых фторсульфатов из стабильных силиловых эфиров. В рамках данного подхода был синтезирован силиловый эфир соединения NQ1 (выход 95 %, Схема 2), который затем использовали в SuFEx-реакции. Реакцию проводили в двухкамерном реакторе (рисунок 3): в камере А генерировался газообразный SO<sub>2</sub>F<sub>2</sub>, а в камере Б протекала клик-реакция (Схема 1). Выход целевого 4-((2-хлор-1,4-нафтохинон-3-ил)амино)фенил фторсульфата (NQS) достиг 95 %.

Схема 2

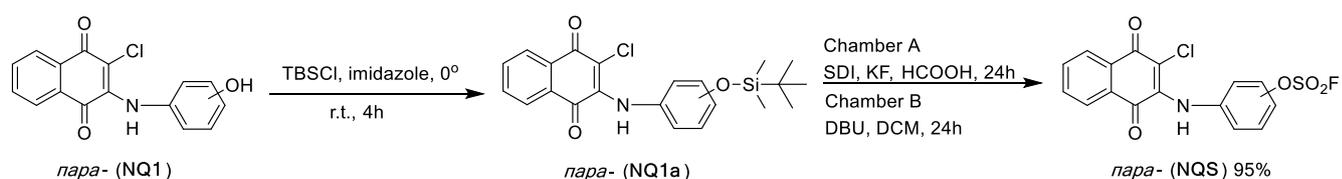




Рисунок 3 — Двухкамерный реактор

*Синтезированные производные 1,4-нафтохинона предоставлены научной группой под руководством д.х.н. профессора научно-образовательного центра Н.М. Кижнера Томского политехнического университета Хлебникова Андрея Ивановича.*

#### **2.4 Приготовление фоновых и исследуемых растворов**

*Приготовление фонового электролита:*

Раствор перхлората натрия ( $\text{NaClO}_4$ ) с концентрацией  $0,1 \text{ моль/дм}^3$  получали растворением навески  $1,225 \text{ г}$  соли в небольшом объеме  $96 \%$  этанола с последующим доведением объема до  $100 \text{ см}^3$  в мерной колбе дистиллированной водой.

Требуемое значение pH фонового электролита устанавливали путем добавления растворов соляной кислоты ( $\text{HCl}$ ,  $1 \text{ моль/дм}^3$ ) или гидроксида натрия ( $\text{NaOH}$ ,  $1 \text{ моль/дм}^3$ ). Изменения pH контролировали с помощью pH-метра.

Приготовление  $\text{NaOH}$  ( $1 \text{ моль/дм}^3$ ): навеску гидроксида натрия массой  $0,4 \text{ г}$  растворяли в дистиллированной воде и довели объем раствора до  $10 \text{ см}^3$  в мерной колбе.

Приготовление  $\text{HCl}$  ( $1 \text{ моль/дм}^3$ ): в мерную колбу на  $10 \text{ см}^3$ , содержащую небольшое количество дистиллированной воды, вносили  $0,9 \text{ см}^3$  концентрированной соляной кислоты (ГОСТ 3118-77) с помощью дозатора и довели объем раствора до метки водой.

Хранение: Приготовленные растворы хранили при комнатной температуре в плотно закрытых емкостях в течение одного месяца.

#### *Приготовление растворов анализируемых соединений*

Растворы анализируемых соединений (NQ, NQ1 и NQS) приготавливали растворением навесок соответствующих веществ, взвешенных с погрешностью не более 0,0002 г, в диметилформамиде (ДМФА). Серии растворов анализируемых соединений с более низкими концентрациями, необходимые для построения градуировочных зависимостей, готовили непосредственно перед проведением измерений. Разбавление осуществляли на основе более концентрированных растворов, что гарантировало высокую точность и воспроизводимость полученных данных.

### **2.5 Методика эксперимента**

#### *Методика получения гидроксифенил производных 1,4-нафтохинона*

Смесь 2,3-дихлор-1,4-нафтохинона (1,1352 г, 5 ммоль), аминафенола (0,5456 г, 5 ммоль) и ацетата натрия (0,6002 г, 5 ммоль) в этаноле (40 мл) нагревали при кипении в течение 16 часов. Исходное нафтохиноновое соединение контролировали методом ТСХ на пластинах в системе СНСл<sub>3</sub>. После охлаждения до комнатной температуры реакционную массу фильтровали. Твердый осадок последовательно промывали охлажденным этанолом (2-5 мл) и водой (2-10 мл) с последующей перекристаллизацией из этанола [134].

#### *Методика получения сильильных производных нафтохинона*

К раствору 2-хлор-3-((4-гидроксифенил)амино)-1,4-нафтохинона (209,4 мг, 1,92 ммоль) и имидазола (195,8 мг, 2,87 ммоль) в дихлорметане (3 мл), охлажденному до 0 °С, при перемешивании добавляли по каплям раствор трет-бутилдиметилхлорсилана (TBSCl, 346,6 мг, 2,29 ммоль) в дихлорметане (0,5 мл). Перемешивание продолжали 2 часа при комнатной температуре. Смесь разбавляли водой и экстрагировали дихлорметаном. Органическую фазу промывали насыщенным раствором хлорида натрия (NaCl), сушили над безводным сульфатом натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), фильтровали и концентрировали на роторном испарителе. Целевой продукт выделяли перекристаллизацией из этанола [134].

*Методика получения фторсульфатных производных нафтохинона*

Загрузка реактора: в камеру А двухкамерного реактора (рис. 3) помещали 1,1'-сульфонилдиимидазол (SDI, 495 мг, 2,5 ммоль) и фторид калия (378 мг, 6,5 ммоль). В камеру В загружали соединение NQ1a (106 мг, 0,5 ммоль), DBU (300 мкл, 2,0 ммоль) и дихлорметан (3 мл). Инициирование реакции: после герметизации реактора, в камеру А инжескировали муравьиную кислоту (1,6 мл), что приводило к мгновенному выделению газа ( $\text{SO}_2\text{F}_2$ ). Завершение реакции: Смесь перемешивали 24 ч при комнатной температуре. После осторожного сброса давления и удаления остаточного сульфурилфторида, содержимое камеры В переносили в круглодонную колбу (100 мл). Камеру В дважды промывали дихлорметаном (2 x 2 мл), объединяя промывные растворы с основным продуктом. Растворитель удаляли в вакууме. Очистку проводили флэш-хроматографией на силикагеле с элюированием хлороформом [134].

*ИК-спектроскопия*

Небольшое количество KBr (0,18 г) измельчали в агатовой ступке до появления кремообразного состояния, затем добавляли небольшое количество (0,0002 г) анализируемого соединения и тщательно перемешивая продолжали измельчение. После этого пробу количественно переносили в таблет-пресс. Полученную таблетку загружали в ИК Фурье спектрометр Agilent 660 и записывали ИК-спектр поглощения в KBr.

*Вольтамперометрическое определение производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ*

Определение производных 1,4-нафтохинона (NQ1 и NQS) методом вольтамперометрии проводили на анализаторе TA-Lab с трехэлектродной выносной ячейкой. Рабочим электродом служил ИМГЭ, электродом сравнения и вспомогательным – ХСЭ, заполненные 1 моль/дм<sup>3</sup> KCl. В ячейку помещали 10 мл фонового электролита (1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub>), pH которого корректировали добавлением 1 моль/дм<sup>3</sup> HCl или NaOH. Раствор деаэрировали азотом в течение 10 мин, после чего проверяли чистоту фона, записывая вольтамперограммы с линейной разверткой потенциала (от -0,9 до -0,35 В для NQ1, от -0,65 до -0,40 В для

NQS) в режиме первой производной при скорости развертки потенциала 100 мВ/с. Каждую запись повторяли не менее пяти раз; отсутствие посторонних пиков подтверждало чистоту системы. Затем в ячейку вносили аликвоту анализируемого раствора NQ1 или NQS и регистрировали вольтамперограммы в тех же условиях. Перед измерением проводили накопление аналита на ИМГЭ: для NQ1 при -1 В (30 с), для NQS при -1,8 В (20 с) с перемешиванием раствора барботажем азота. Все опыты выполняли при комнатной температуре и атмосферном давлении. Присутствие NQ1 и NQS фиксировали по пикам при потенциалах  $(-0,58 \pm 0,05)$  В и  $(-0,53 \pm 0,05)$  В, соответственно.

#### *Спектрофотометрическое определение производных 1,4-нафтохинона*

Спектрофотометрическое определение производных 1,4-нафтохинона (NQ1 и NQS) проводилось на спектрофотометре Agilent Technology Cary 60 UV-Vis. Сначала производили подтверждение чистоты раствора сравнения, в качестве раствора сравнения выступал этиловый спирт, предварительно подкисленный раствором 1 моль/дм<sup>3</sup> соляной кислоты до достижения рН = 4. Для этого записывали спектр поглощения раствора сравнения в диапазоне длин волн 200–800 нм с погрешностью  $\pm 0,1$  нм, данную операцию повторяли не менее пяти раз. Отсутствие посторонних максимумов поглощения на полученных спектрах раствора сравнения свидетельствует о чистоте спектрофотометрической кюветы и раствора сравнения. Затем в кювету с толщиной поглощающего слоя 1 см добавляли небольшое количество анализируемого соединения и разбавляли необходимым количеством этилового спирта, предварительно подкисленным раствором 1 моль/дм<sup>3</sup> соляной кислоты до достижения рН = 4, и снимали спектры поглощения в диапазоне длин волн 200–800 нм с погрешностью  $\pm 0,1$  нм, с дальнейшей регистрацией длины волны максимума поглощения. Все эксперименты проводились в условиях комнатных температур и нормальном атмосферном давлении. При этом о присутствии в растворе соединений NQ1 и NQS судили по наличию максимумов поглощения при длине волны  $(280 \pm 2)$  нм с погрешностью  $\pm 0,1$  нм.

#### *Подготовка клеточной линии*

Исследованные клеточные линии – PC-3 (аденокарцинома предстательной железы), SKOV-3 (карцинома яичников) и MCF-7 (аденокарцинома молочной железы) – культивировали в среде DMEM с модифицированным составом. Клетки инкубировали в стандартных условиях: 37 °С, 5 % CO<sub>2</sub>, 100 % влажность. Для проведения экспериментов использовали клеточные популяции, находящиеся в стабильной фазе роста, достигнутой в описанных условиях.

#### *Тесты на жизнеспособность клеток*

Для оценки цитотоксичности клетки высевали в 96-луночные планшеты из расчета 5000 клеток/лунку за 24 ч до эксперимента, обеспечивая их адгезию и адаптацию. Затем среду заменяли на свежую, содержащую тестируемые соединения в серийных разведениях (от 50 до 0,39 мкмоль/дм<sup>3</sup>). Планшеты инкубировали при 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub>. Через 24 ч жизнеспособность клеток определяли с помощью МТТ-теста: среду заменяли на раствор 0,45 мг/см<sup>3</sup> 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия бромид (МТТ), инкубировали 4 ч, затем растворяли образовавшиеся кристаллы формазана в ДМСО (100 мкл/лунку) и измеряли оптическую плотность при 570 нм. Результаты выражали в процентах к контролю. Дополнительно на клеточной линии Jurkat (40000 клеток/лунку) оценивали жизнеспособность, апоптоз/некроз и уровень АФК после 24-часовой инкубации с соединениями в тех же концентрациях, используя наборы Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit и Cellular ROS Assay Kit по инструкции производителя. Все эксперименты проводили в 6 повторах.

#### *Методика определения антиоксидантной активности*

Антиоксидантную активность исследуемых соединений оценивали методом вольтамперометрии. Измерения выполняли в электрохимической ячейке с кварцевым корпусом, оснащенной ртутно-пленочным рабочим электродом и хлоридсеребряными электродами (сравнения и вспомогательным). В ячейку помещали 10 мл фонового электролита – 0,1 моль/дм<sup>3</sup> раствора перхлората натрия (NaClO<sub>4</sub>) в спиртовой среде. Перед регистрацией сигнала выполняли подготовку электрода: активацию при потенциале -1,0 В в течение 120 секунд, затем стадию успокоения (20 секунд) при потенциале 0 В. После этого регистрировали катодные

вольтамперограммы восстановления растворенного кислорода в диапазоне потенциалов от 0 до -1,5 В. Далее в подготовленную ячейку добавляли аликвоту раствора анализируемого антиоксиданта. Катодные вольтамперограммы регистрировали повторно при идентичных параметрах. Установление антиоксидантной активности анализируемых соединений устанавливали сравнением значений токов катодного пика с добавлением и без добавления различных анализируемых соединений.

*Методика определения активности по отношению к гидроксильным радикалам*

Методика определения активности по отношению к гидроксильным радикалам базируется на использовании высокочувствительного импедансометрического сенсора на основе нетоксичного модификатора N-ацетил-L-цистеина (АЦЦ). Рабочим электродом служил ИМГЭ. На его поверхность электроосадили золото из раствора  $\text{HAuCl}_4$  ( $82,4 \text{ мкмоль/дм}^3$ ) при циклировании потенциала от  $-0,55$  до  $0,05$  В при скорости развертки потенциала  $1 \text{ мВ/с}$ . Полученный сенсор подвергали электрополировке в  $0,05 \text{ моль/дм}^3 \text{ H}_2\text{SO}_4$  (10 циклов,  $0-1,5$  В,  $100 \text{ мВ/с}$ ). Для формирования самоорганизованного монослоя АЦЦ сенсор выдерживали 24 ч в  $10 \text{ ммоль/дм}^3$  водном растворе АЦЦ при комнатной температуре. Поскольку сенсор предназначен для многократного использования, после измерений его регенерировали в  $0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ КОН}$  путем циклирования потенциала ( $0-1,5$  В,  $100 \text{ мВ/с}$ ) для удаления адсорбированной АЦЦ. Измерения проводили в трехэлектродной ячейке (рабочий: модифицированный сенсор; сравнения: ХСЭ ( $1 \text{ моль/дм}^3 \text{ KCl}$ ); вспомогательный: Pt-электрод), содержащей 10 мл фосфатного буферного раствора. После добавления анализируемого соединения и  $0,25 \text{ мкл } 20 \text{ нмоль/дм}^3 \text{ H}_2\text{O}_2$  (для генерации  $1 \text{ нммоль/дм}^3 \text{ OH}\cdot$ ), раствор облучали УФ ( $\lambda=254 \text{ нм}$ ) в течение 10 мин. Гидроксильные радикалы генерировали *in situ* УФ-облучением  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Затем регистрировали нефарадеевский импеданс для анализа двойного электрического слоя.

## 2.6 Статистическая обработка результатов

Метрологическая аттестация разработанных методик количественного определения производных 1,4-нафтохинона (NQ1 и NQS) в субстанциях проводилась в соответствии с требованиями руководящего документа РМГ 61-2010 «Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки». Статистическая обработка экспериментальных данных и расчет метрологических показателей выполнялись с применением программного обеспечения MS Office Excel 2007.

В ходе валидации были экспериментально оценены следующие ключевые параметры качества аналитических методик:

- 1) Пределы обнаружения и количественного определения;
- 2) Среднее квадратическое отклонение (СКО) результатов анализа;
- 3) Правильность;
- 4) Внутрिलाбораторная прецизионность;
- 5) Компоненты общей погрешности (систематическая и случайная составляющие).

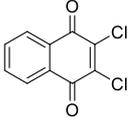
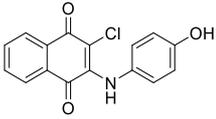
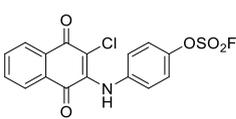
### ГЛАВА 3. ОЦЕНКА ЦИТОПРОТЕКТОРНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА

В связи с тем, что исследование электрохимических и оптических свойств производных 1,4-нафтохинона, не только обогащает научную базу, но и открывает перспективы для разработки новых лекарственных средств на основе анализируемых соединений. Было принято решение провести исследование их цитопротекторных свойств, а также антиоксидантных свойств при помощи различных известных методик. Проведенные исследования помогут выявить механизмы защиты клеток от окислительного стресса и других повреждающих факторов, а также определить возможные пути клинического применения данных соединений в терапии различных заболеваний. Таким образом, данная глава станет важным шагом в понимании потенциала производных 1,4-нафтохинона как перспективных терапевтических агентов.

#### 3.1 Исследование противораковых свойств производных 1,4-нафтохинона на клеточных линиях PC-3 (аденокарцинома предстательной железы), SKOV-3 (рак яичников), MCF-7 (рак молочной железы) и Jurkat

В работе [135] показано, что серосодержащие производные нафтохинона проявили наибольшую активность против линии клеток рака простаты PC-3. Поэтому полученные соединения были протестированы на цитотоксичность (МТТ, микроскопия) против различных линий раковых клеток, включая рак простаты PC-3. Результаты этого исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты экспериментального определения IC<sub>50</sub> (мкМ) для линий раковых клеток (n=6)

Клеточная линия	 NQ	 NQ1	 NQS	Цисплатин
PC-3	22,31±3,54	1,59±0,10	6,23±1,08	40,89±6,20
MCF-7	9,89±1,03	7,68±0,62	17,48±3,02	33,46±5,42
SKOV-3	20,56±2,16	5,98±0,65	7,22±0,92	32,81±7,12
Jurkat	37,88±5,49	2,87±0,10	4,24±0,34	19,97±1,98

Исследованные производные 1,4-нафтохинона значительно превосходили эффекты стандартного цитостатика цисплатина. Клеточные линии рака предстательной железы (PC-3) и лимфобластного лейкоза (Jurkat) оказались более восприимчивы к воздействию соединений. Попарное сравнение параметров цитотоксичности соединений NQ1 и NQS, позволяет сделать вывод о том, что соединение NQ1 оказывает несколько более высокое ингибирующее действие на все исследованные клеточные линии по сравнению с его фторсульфатным аналогом. В общем и целом, параметры цитотоксичности двух анализируемых соединений достаточно близки. Также, все модифицированные соединения оказались значительно превосходящими по цитотоксическому эффекту, чем исходное соединение NQ. Клетки рака молочной железы (MCF-7) оказались относительно более устойчивыми к воздействию всех соединений.

Варианты гибели клеток (апоптоз разных стадий и некроз) были оценены на клеточной линии Jurkat (рисунок 4). Было выявлено дозозависимое увеличение уровня гибели клеток, причем основным механизмом этого процесса является индукция апоптоза. Даже при воздействии максимальных концентраций исследуемых соединений доля клеток, подвергшихся первичному некрозу, сохранялась на низком уровне. Установленные закономерности цитотоксичности коррелируют с данными, полученными при тестировании этих веществ на альтернативных опухолевых клеточных линиях.

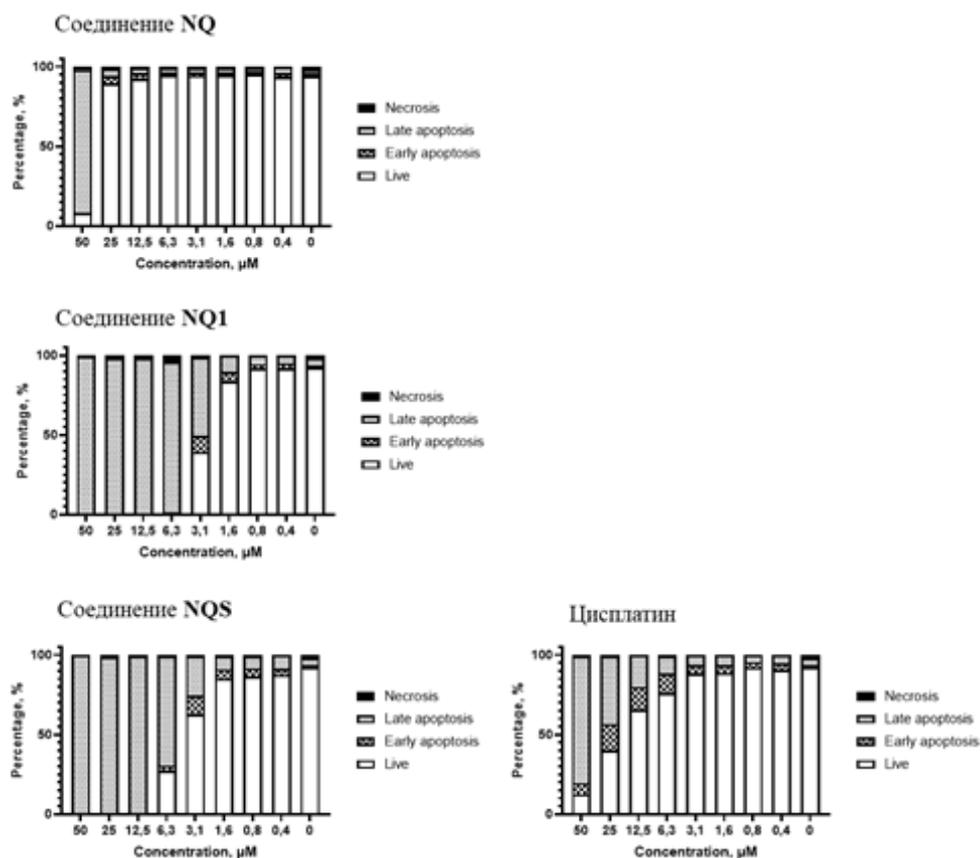


Рисунок 4 – Оценка распределения вариантов клеточной гибели в популяции клеток Jurkat после 24 часов воздействия соединениями в разных концентрациях.

Соотношение жизнеспособных клеток и клеток в состоянии раннего апоптоза, позднего апоптоза или некроза

Высокий уровень апоптоза, индуцируемый ксенобиотиками в клеточных культурах, обусловлен невозполнимым критическим повреждением клеток. Характерным сопутствующим признаком является серьезная митохондриальная дисфункция, инициирующая окислительный стресс. Экспериментальным доказательством этого служит наблюдаемое накопление активных форм кислорода (АФК) в клетках при обработке исследуемыми соединениями (рисунок 5).

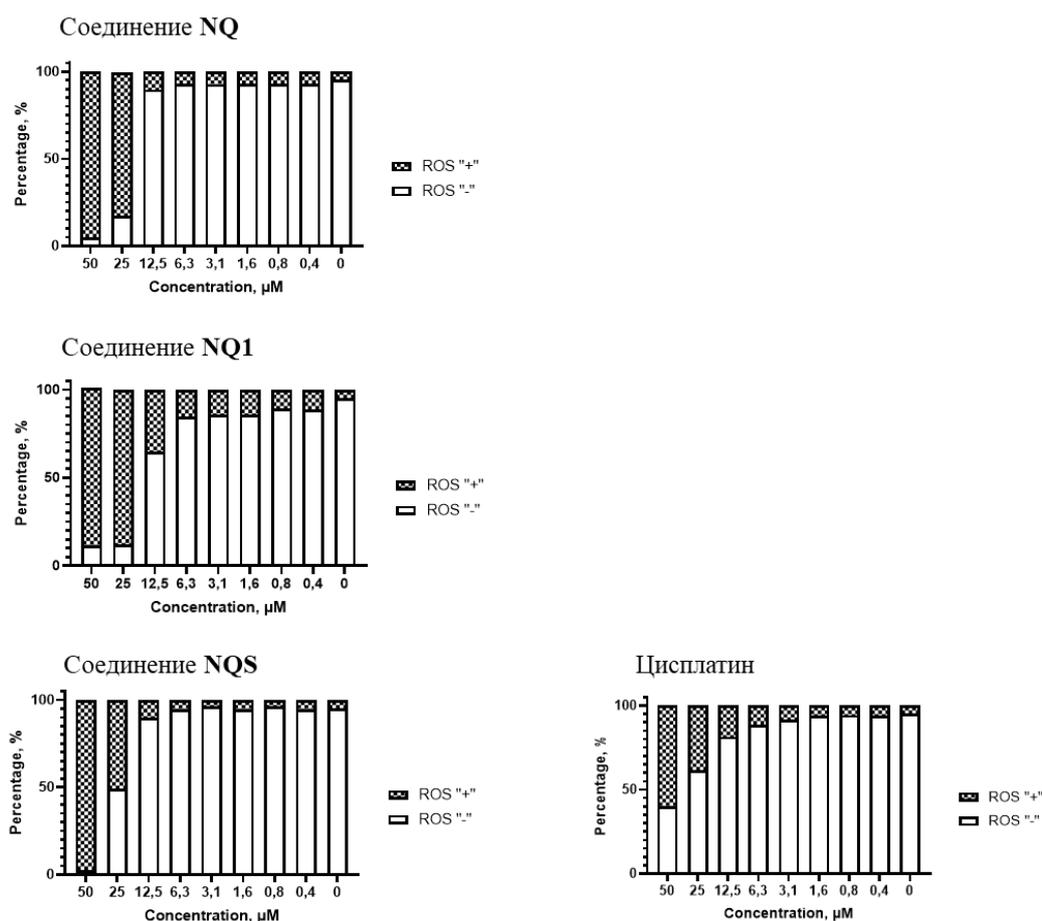


Рисунок 5 – Оценка уровня окислительного стресса в клетках Jurkat после 24 часов воздействия соединениями в разных концентрациях. Соотношение клеток с высоким окислительным стрессом (ROS+) и низким уровнем продукции радикалов (ROS-)

Уровень окислительного стресса в клетках (уровень продукции АФК) также коррелирует с увеличением концентрации веществ (рисунок 4).

При оценке цитотоксического потенциала исследуемых соединений NQ1 и NQS продемонстрировали значимые антипролиферативные эффекты в отношении протестированных линий опухолевых клеток. Наблюдаемая цитотоксичность сопровождалась критическим повышением параметров внутриклеточного окислительного стресса и увеличением маркеров апоптоза.

*Исследование противораковых свойств производных 1,4-нафтохинона на клеточных линиях PC-3 (аденокарцинома предстательной железы), SKOV-3 (рак яичников), MCF-7 (рак молочной железы) и Jurkat проведено и предоставлено к.х.н. доцентом исследовательской школы химических и биомедицинских технологий*

*Томского Политехнического университета Плотниковым Евгением Владимировичем.*

### **3.2. Исследование антиоксидантных свойств производных 1,4-нафтохинона методом вольтамперометрии по току электровосстановления кислорода**

Антиоксиданты представляют собой жизненно важные молекулы, обладающие способностями к улавливанию свободных радикалов и восстановлению поврежденных окислительным стрессом молекул, что в свою очередь способствует предотвращению цепных реакций окисления. Данные особенности этих соединений крайне важны для поддержания как гомеостаза, так и общего здоровья организма. В связи с этим, выявление новых соединений с высокой антиоксидантной активностью становится важным аспектом в научных исследованиях.

Поскольку производные 1,4-нафтохинона позиционируются как многообещающие агенты с выраженными антиоксидантными свойствами, в данном пункте была проведена оценка антиоксидантной активности соединений NQ1 и NQS посредством изучения закономерностей электровосстановления кислорода ( $\text{ЭВ O}_2$ ) и его радикалов в присутствии анализируемых соединений в этанольной среде методом вольтамперометрии.

Процесс  $\text{ЭВ O}_2$ , на поверхности ртутно-пленочного электрода протекает по схеме [136]:



Несмотря на то, что производные 1,4-нафтохинона легко растворяются в апротонных растворителях и растворение данных соединений проводилось именно в таком растворителе (ДМФА), для более корректной интерпретации результатов для живых систем было решено использовать в качестве раствора фоновый электролит спиртовой раствор 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub>.

Для оценки антиоксидантных свойств исследуемых соединений применяли следующую электрохимическую методику. В кварцевую ячейку, оснащенную ртутно-пленочным рабочим электродом, хлоридсеребряным электродом сравнения и хлоридсеребряным вспомогательным электродом, вводили 10 мл спиртового раствора фонового электролита (0,1 М NaClO<sub>4</sub>). Затем осуществляли активацию электрода: выдерживали потенциал при -1,0 В в течение 120 секунд. После этого следовал этап стабилизации: потенциал 0 В в течение 20 секунд. Далее регистрировали катодные вольтамперограммы восстановления кислорода (ЭВ O<sub>2</sub>), сканируя потенциал от 0 В до -1,5 В. После записи фонового сигнала в ячейку добавляли аликвоту раствора тестируемого соединения определенной концентрации и повторяли запись вольтамперограмм в идентичных условиях. Сравнение значений токов катодного пика с добавлением и без добавления различных концентраций анализируемых веществ к раствору фонового электролита позволяет установить антиоксидантную активность исследуемых соединений при различных концентрациях. Методика определения антиоксидантной активности соединений NQ1 и NQS методом вольтамперометрии разработана и описана авторами [137, 138].

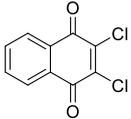
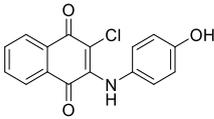
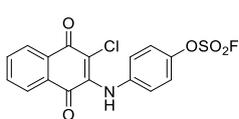
Для оценки антиоксидантной активности производных 1,4-нафтохинона, был использован кинетический критерий, отражающий количество прореагировавших активных форм кислорода, с антиоксидантом за одну минуту K, мкмоль/(дм<sup>3</sup>·мин) (коэффициент антиоксидантной активности образцов), который рассчитывался по формуле (1).

$$K = \frac{C_{O_2}}{t} \left( 1 - \frac{I_i}{I_0} \right) \quad (1)$$

где C<sub>O<sub>2</sub></sub> – концентрация кислорода в исходном растворе без вещества, мкмоль/дм<sup>3</sup>; I<sub>i</sub> – величина предельного тока ЭВ O<sub>2</sub>, мкА; I<sub>0</sub> – величина предельного тока ЭВ O<sub>2</sub> в отсутствие вещества в растворе, мкА; t – время процесса, мин.

Из анализируемых производных 1,4-нафтохинона, только соединение NQS проявило антиоксидантную активность (таблица 2), снижая ток ЭВ O<sub>2</sub>, что указывает на его взаимодействие с активными формами кислорода (O<sub>2</sub><sup>-</sup> и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Таблица 2 – Результаты экспериментального определения антиоксидантной активности производных 1,4-нафтохинона ( $P = 0,95$ ;  $n = 3$ ).

Концентрация, мкмоль/дм <sup>3</sup>	 <b>NQ</b>	 <b>NQ1</b>	 <b>NQS</b>
0,1	$-5,90 \pm 0,31$	$-5,93 \pm 0,24$	$0,33 \pm 0,10$
0,5	$-5,51 \pm 0,27$	$-5,67 \pm 0,10$	$0,87 \pm 0,09$
1	$-5,26 \pm 0,21$	$-5,64 \pm 0,24$	$0,57 \pm 0,14$
5	$-5,00 \pm 0,24$	$-5,10 \pm 0,28$	$0,29 \pm 0,09$
10	$-4,45 \pm 0,20$	$-4,92 \pm 0,26$	$0,215 \pm 0,050$

Причем, стоит отметить, что максимальное значение коэффициента антиоксидантной активности соединения NQS достигается при его концентрации в растворе равной 0,5 мкмоль/дм<sup>3</sup> (рисунок 6).

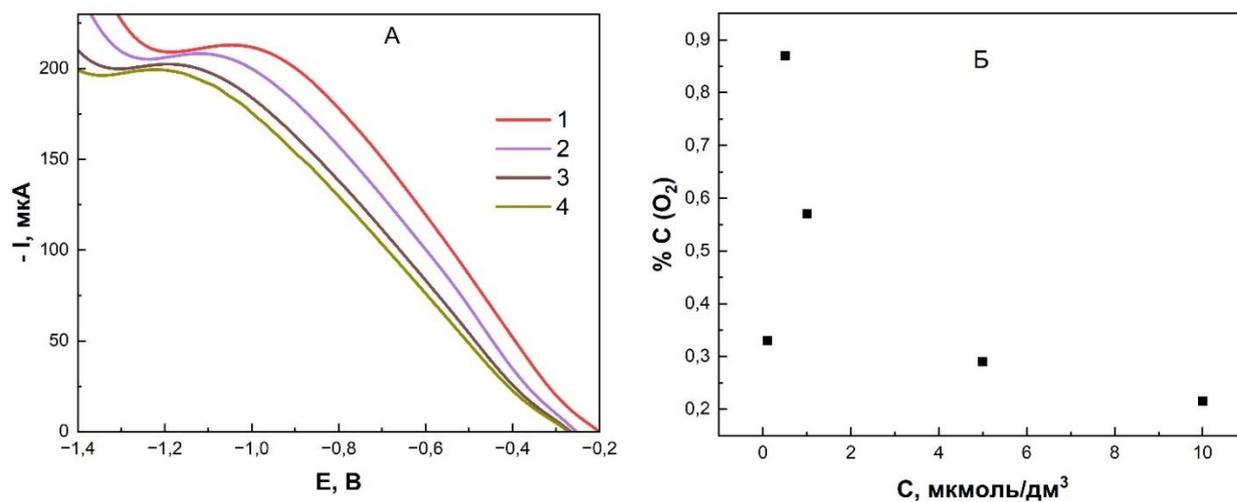


Рисунок 6 А) 1 – Вольтамперограммы тока ЭВ O<sub>2</sub> на ртутнопленочном электроде; 2 – 0,5 мкмоль/дм<sup>3</sup> вещества NQS при  $t = 3$  мин; 3 –  $t = 6$  мин; и 4 –  $t = 9$  мин в спиртовом растворе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub> на ртутнопленочном электроде относительно ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup> KCl); скорость сканирования потенциала 100 мВ/с; Б) зависимость количества прореагировавших активных форм кислорода от концентрации вещества NQS

Антиоксидантные свойства соединения NQS можно объяснить наличием в его структуре электродонорных групп, таких как сера и фтор. Эти функциональные

группы увеличивают электронообменные свойства соединения, обеспечивая его эффективность в нейтрализации окислительных процессов [139].

### **3.3. Исследование активности производных 1,4-нафтохинона по отношению к гидроксильным радикалам**

Гидроксильные радикалы ( $\text{OH}\cdot$ ) являются наиболее реакционноспособными веществами в организме человека, ввиду чего способны не только вступать во взаимодействие с любыми биомолекулами, но и вызывать серьезные повреждения липидов белков и нуклеиновых кислот. Образование  $\text{OH}$ -радикалов происходит во время метаболических процессов и может усугубляться под воздействием различных внешних факторов, таких как УФ-излучение и наличие экотоксикантов. Так как окислительный стресс, вызываемый воздействием гидроксильных радикалов, играет ключевую роль в патогенезе таких заболеваний, как сердечно-сосудистые заболевания, рак, нейродегенеративные расстройства, атеросклероз, а также депрессия и тревожные расстройства, то улавливание и нейтрализация гидроксильных радикалов являются важными задачами для разработки эффективных антиоксидантных стратегий в медицине.

Оценка антиоксидантного действия соединений NQ1 и NQS в отношении гидроксильных радикалов проводилась с использованием методики, описанной в источнике [140]. В основе метода лежит высокочувствительный импедансометрический сенсор, модифицированный нетоксичным N-ацетил-L-цистеином (АЦЦ). Процедура изготовления сенсора состояла из нескольких этапов.

Первый этап – нанесение золотого покрытия: в качестве основы использовался импрегнированный графитовый электрод. На его поверхность электрохимическим способом осаждали золото из раствора  $\text{HAuCl}_4$  (концентрация  $82,4 \text{ мкмоль/дм}^3$ ). Процесс проводили в потенциостатическом режиме, изменяя потенциал от  $-0,55 \text{ В}$  до  $+0,05 \text{ В}$  при скорости сканирования  $1 \text{ мВ/с}$ .

Второй этап – электрополировка: для очистки и активации поверхности полученный сенсор подвергали циклической вольтамперометрии (10 циклов) в

0,05 моль/дм<sup>3</sup> растворе серной кислоты. Диапазон потенциалов составлял от 0 В до +1,5 В, скорость развертки – 100 мВ/с.

Третий этап – формирование монослоя АЦЦ: для создания на поверхности золота самоорганизующегося монослоя N-ацетил-L-цистеина сенсор помещали в водный раствор этого соединения (концентрация 10 ммоль/дм<sup>3</sup>) и выдерживали при комнатной температуре в течение 24 часов.

Четвертый этап – регенерация сенсора: поскольку сенсор предназначен для многократного использования, после каждого измерения проводили его регенерацию. Остаточные молекулы АЦЦ удаляли с поверхности электрода методом линейной вольтамперометрии в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> растворе КОН. Потенциал изменяли от 0 В до +1,5 В со скоростью 100 мВ/с.

Эксперименты проводили в трехэлектродной электрохимической ячейке. Разработанный сенсор служил рабочим электродом, хлорсеребряный электрод (ХСЭ, 1 моль/дм<sup>3</sup> КСl) – электродом сравнения, а платиновый электрод – вспомогательным.

Согласно методике [140], способность исследуемых соединений (NQ1 и NQS) улавливать гидроксильные радикалы оценивали следующим образом: в электрохимическую ячейку, содержащую 10 см<sup>3</sup> фосфатного буферного раствора (фоновый электролит), вносили определенный объем раствора тестируемого антиоксиданта. Исследования проводились на трех различных уровнях концентраций: 10, 1, и 0,1 мкмоль/дм<sup>3</sup>, что обосновывается доказанной цитотоксичностью анализируемых соединений в отношении опухолевых клеток, что в свою очередь делает их перспективными агентами для применения в качестве лекарственных средств.

После добавления необходимого количества анализируемых соединений в электрохимическую ячейку вносят 0,25 мкл Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> с концентрацией 20 нмоль/дм<sup>3</sup>. Данное количество Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> необходимо для генерации гидроксильных радикалов в концентрации 1 нмоль/дм<sup>3</sup>. Генерацию ОН-радикалов проводят в течение 10 минут при воздействии УФ-излучения с длиной волны 254 нм. Затем проводят измерения двойного электрического слоя методом нефарадеевского импеданса.

Для количественной оценки антиоксидантной активности анализируемых соединений используются два критерия:

1) Концентрация ОН-радикалов, подвергнутых действию антиоксиданта  $c'_{\text{ОН}}$  (формула 2)

$$c'_{\text{ОН}} = c_{\text{ОН}} - \frac{\Delta c_{\text{ант}}}{\Delta c_{\text{ОН}}} \cdot c_{\text{ОН}}, \quad (2)$$

2) Процент уловленных ОН-радикалов  $\%_{\text{ОН}}$  (формула 3)

$$\%_{\text{ОН}} = 1 - \left( \frac{\Delta c_{\text{ант}}}{\Delta c_{\text{ОН}}} \right). \quad (3)$$

где  $\Delta c_{\text{ант}}$  – аналитический сигнал, полученный при воздействии антиоксиданта,  $\Delta c_{\text{ОН}}$  – аналитический сигнал без антиоксиданта,  $c_{\text{ОН}}$  – начальная концентрация ОН· 1 нмоль/дм<sup>3</sup>.

Результаты эксперимента показали, что антиоксидантная активность по отношению к гидроксильным радикалам наблюдается исключительно у соединения NQS, что согласуется с данными, представленными в подпункте 3.2. Полученные показатели увеличивающегося значения емкости двойного электрического слоя  $C_{\text{dl}}$  наглядно свидетельствуют о разрушении монослоя АЦЦ гидроксильными радикалами и увеличении электроактивной площади поверхности сенсора. При добавлении соединения NQS происходит связывание ОН-радикалов с данным веществом, что подтверждается уменьшением степени разрушения монослоя АЦЦ (рисунок 7).

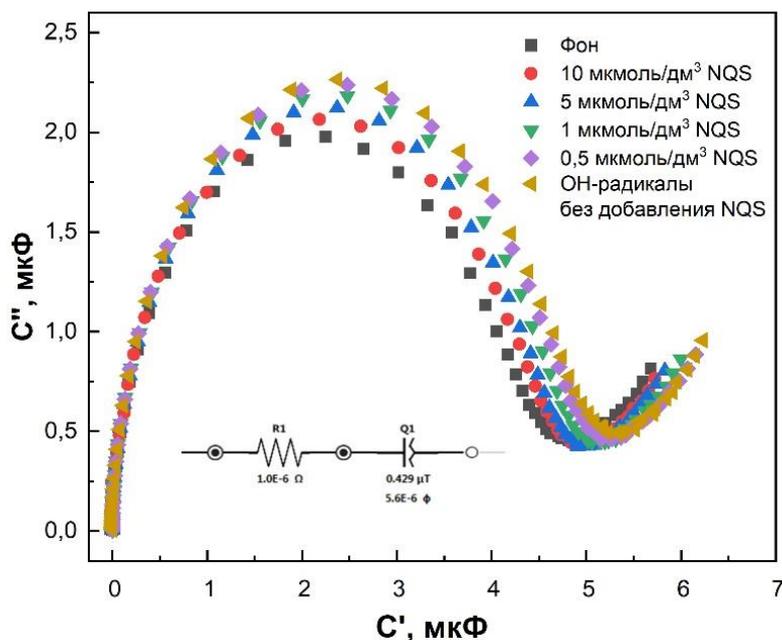


Рисунок 7 – Импедансные спектры в координатах емкостей в фосфатном буферном растворе (рН=6,86) при добавлении разных концентраций соединения NQS; Вставка: эквивалентная электрическая цепь

Также необходимо отметить, что процент уловленных ОН-радикалов, а также концентрация ОН-радикалов, подвергнутых действию NQS увеличиваются прямо пропорционально увеличению концентрации NQS в растворе таблица 3.

Таблица 3 – Количество ОН-радикалов, ингибированных соединением NQS, в зависимости от его концентрации ( $P = 0,95$ ;  $n = 3$ )

Концентрация NQS, мкмоль/дм <sup>3</sup>	Процент ОН-радикалов, уловленных антиоксидантом NQS (%)	Концентрация ОН-радикалов, подвергнутых действию NQS $c'_{\text{ОН}}$ , нмоль/дм <sup>3</sup>
10	69,00±2,62	0,69±0,03
5	65,00±2,46	0,65±0,03
1	44,50±2,02	0,45±0,02
0,5	27,30±1,73	0,27±0,02

Анализ данных проведенного эксперимента указывает на потенциал NQS, как защитного агента по отношению к гидроксильным радикалам. Высокая реакционная способность во взаимодействии с гидроксильными радикалами обуславливается структурными особенностями данного соединения. Поскольку,

ОН-радикал является сильным электрофилом, он демонстрирует выраженное сродство к электронодонорным участкам молекул, к числу которых в свою очередь можно отнести ароматические кольца и атомы серы. Присутствие в структуре NQS таких электронодонорных центров, обосновывает взаимодействие данного соединения с ОН-радикалами и лежит в основе его защитных свойств при окислительном стрессе. Данный факт имеет важное значение для дальнейшего изучения биологической активности данного соединения и использования его в качестве прототипа лекарственного средства.

## **ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ПРОЦЕССА ОКИСЛЕНИЯ-ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА НА ИМПРЕГНИРОВАННОМ ГРАФИТОВОМ ЭЛЕКТРОДЕ**

Анализ литературы показал, что исследование физико-химических закономерностей и схем протекания окислительно-восстановительных процессов производных 1,4-нафтохинона является важной научной задачей, имеющей особое значение для различных областей химии и разделов материаловедения. Эти соединения, обладающие уникальными свойствами и активностью, открывают новые горизонты для разработки терапевтических средств, катализаторов, и экологически безопасных материалов.

Во-первых, окислительно-восстановительные реакции производных 1,4-нафтохинона играют критическую роль в биохимических процессах. Как показано в исследованиях [69–78], производные 1,4-нафтохинона проявляют значительную антимикробную активность, что связано с их способностью вызывать окислительный стресс в клетках, как следствие приводя их к апоптозу.

Во-вторых, роль различных групп заместителей вводимых в структуры производных 1,4-нафтохинона критична для предсказания их реакционной способности. Исследования [141–144] продемонстрировали, что введение электронодонорных и электроноакцепторных заместителей способствует изменению термодинамических и кинетических параметров окислительно-восстановительных процессов. Что в свою очередь позволяет прогнозировать реакционную способность соединений, исходя из их структурной формулы.

В-третьих, понимание физико-химических закономерностей окислительно-восстановительного поведения производных 1,4-нафтохинона может способствовать созданию новых экологически безопасных материалов или эко-диагностических агентов для мониторинга загрязнений [145–148], что делает их ценными в контексте защиты экологии и окружающей среды.

Таким образом, можно сделать вывод, что исследование схем протекания окислительно-восстановительных процессов производных 1,4-нафтохинона имеет многообещающие перспективы как для теоретических, так и для прикладных исследований. Углубленное понимание этих закономерностей не только расширяет научные горизонты, но и содействует разработке эффективных катализаторов, экологичных материалов и терапевтических агентов, что делает данную тему актуальной и значительной.

В данной работе окислительно-восстановительные свойства производных 1,4-нафтохинонов исследовались методом циклической вольтамперометрии на рабочем импрегнированном графитовом электроде.

#### **4.1 Характеристика импрегнированного графитового электрода (ИМГЭ)**

##### **4.1.1 Исследование морфологии поверхности ИМГЭ методом сканирующей электронной микроскопии**

Морфологию поверхности импрегнированного графитового электрода (ИМГЭ) исследовали методом растровой электронной микроскопии на приборе JEOL JSM-7500FA с автоэмиссионным катодом. Изображения получали с использованием детекторов вторичных (ВЭ) и обратно-рассеянных электронов (ОРЭ) при рабочих параметрах: ускоряющее напряжение 10 кВ, рабочее расстояние 7–8 мм. На рисунке 8 представлена ВЭ-микрофотография поверхности ИМГЭ.

Электродный материал имеет композитную природу. Его микропористая структура формируется за счет неоднородного распределения импрегната (смесь полиэтилена с парафином) в процессе пропитки. На микрофотографии (рисунок 8А) визуализируются:

- 1) Участки импрегната;
- 2) Механические повреждения (царапины), возникшие при очистке поверхности фильтром;
- 3) Остаточные поры, унаследованные от исходной графитовой матрицы.

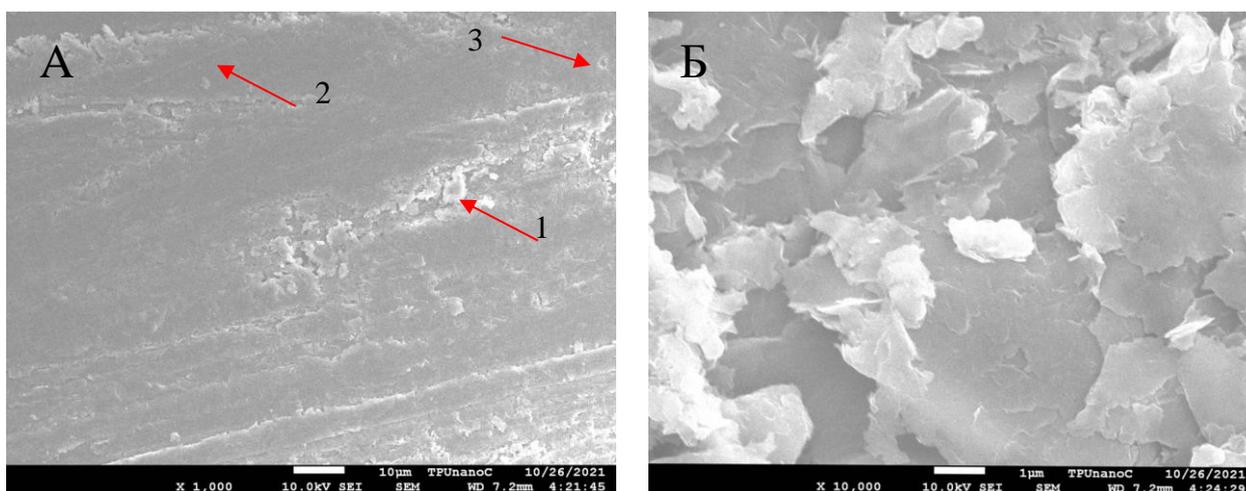


Рисунок 8 – Электронно-микроскопическое изображение участков поверхности во вторичных электронах ИМГЭ

При достаточном увеличении изображения, на поверхностях участка наблюдается наличие микропор (рисунок 8Б) с диаметром около 2 мкм, в окружении которых также присутствуют отдельные поры с меньшим диаметром около 200 нм. Исходя из этого, можно сделать вывод о достаточно разветвленной поверхности рабочего электрода.

#### 4.1.2 Вычисление значения электроактивной площади поверхности ИМГЭ

Для анализа рабочих характеристик импрегнированного графитового электрода в роли индикатора применяется стандартная окислительно-восстановительная система  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ . Циклические вольтамперограммы, иллюстрирующие процессы окисления и восстановления данной пары на исследуемом электроде, приведены на рисунке 9А. Электроактивную площадь поверхности электрода определяли методом циклической вольтамперометрии, фиксируя пиковые токи окисления и восстановления  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  при ступенчатом увеличении скорости развертки потенциала в диапазоне от 20 до 200 мВ/с. Наблюдаемая линейная зависимость величин анодного и катодного пиковых токов от квадратного корня скорости сканирования ( $V^{1/2}$ ), представленная на рисунке 9Б, свидетельствует о кинетической обратимости электрохимического процесса. Это подтверждение обратимости позволяет использовать соответствующие уравнения для расчета электрохимических характеристик электрода.

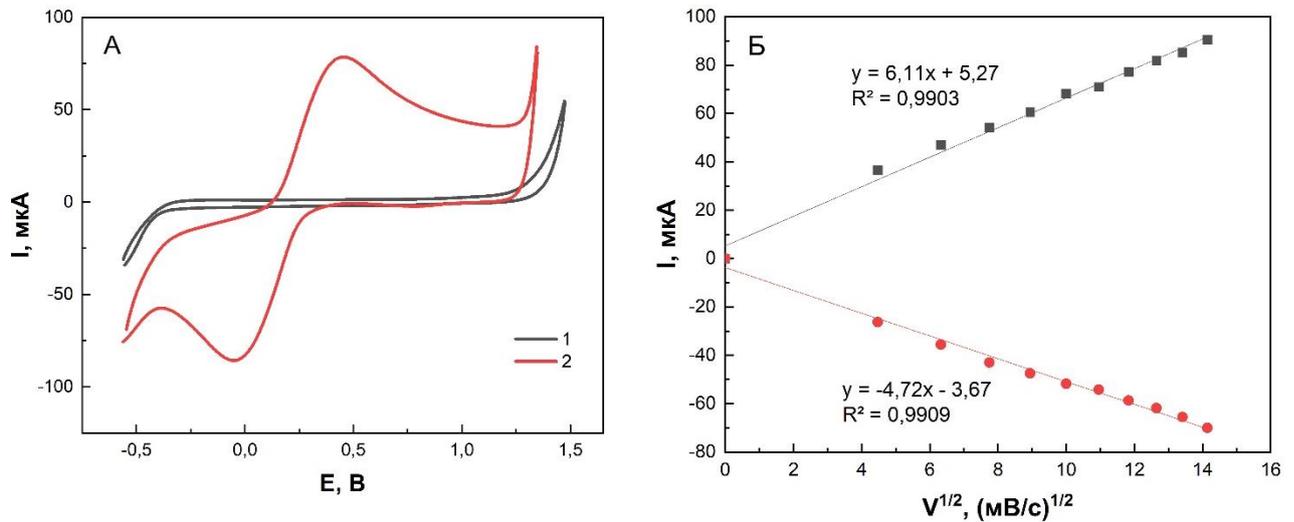


Рисунок 9 – (А) Циклические вольтамперограммы и (Б) зависимость тока окисления и восстановления от  $V^{1/2}$   $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  (5 ммоль/дм<sup>3</sup>) на ИМГЭ в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> KCl на ИМГЭ

Для вычисления электроактивной площади поверхности применялось уравнение Рэндлса-Шевчика (формула 4), согласно которому рассчитанная площадь поверхности ИМГЭ составляет 0,059 см<sup>2</sup> [149].

$$I_p = \pm 2.69 \times 10^5 z^{3/2} A D^{1/2} C W^{1/2} \quad (4)$$

где:  $I_p$  – ток пика, А

$z$  – число электронов ( $n=1$ );

$A$  – площадь электроактивной поверхности, см<sup>2</sup>;

$D$  – коэффициент диффузии ( $7,60 \times 10^{-6}$  см<sup>2</sup>/с);

$C$  – концентрация  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  в растворе (5 ммоль/дм<sup>3</sup>).

#### 4.1.3 Исследование электрохимических свойств ИМГЭ методом электрохимической импедансной спектроскопии (ЭИС)

На рисунке 10А изображен импедансный спектр ИМГЭ в координатах емкостей в фосфатном буферном растворе (рН=6,86). Полученный спектр соответствует эквивалентной электрической цепи (рисунок 10А Вставка). Правильность подобранной схемы подтверждается малыми значениями ошибок элементов смоделированной цепи, менее 5 % и значением критерия  $\chi^2 = 5,7 \cdot 10^{-3}$ . Емкость двойного электрического слоя (ДЭС) ( $C_{dl}$ ) рассчитана по формуле [150] и её значение равно 2,148 мкФ.

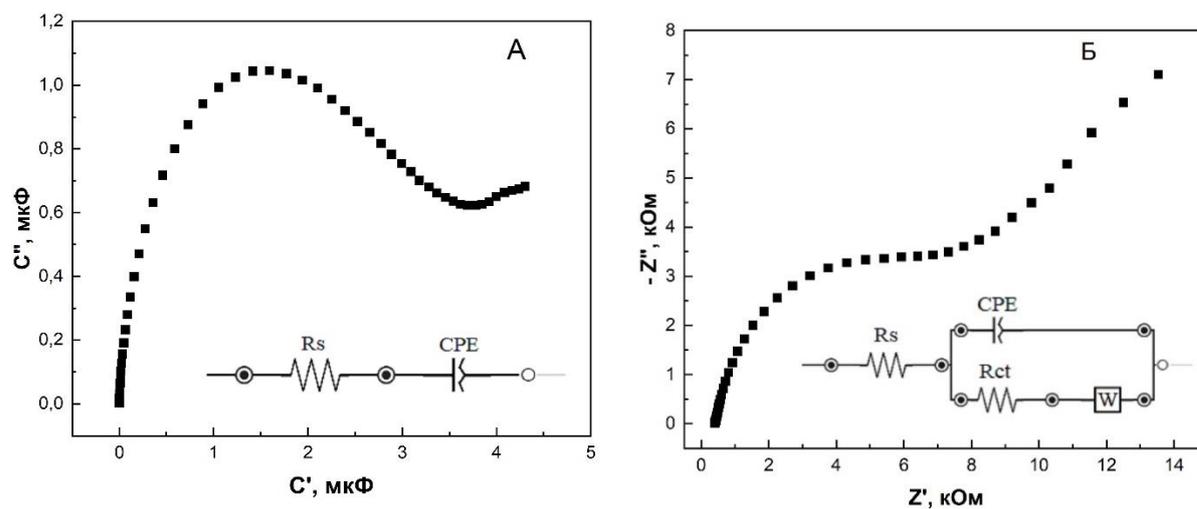


Рисунок 10 – Импедансный спектр ИМГЭ А) в координатах емкостей в фосфатном буферном растворе (рН=6,86) Б) в координатах Найквиста 5 ммоль/дм<sup>3</sup> [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>/[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> КСl. Вставка: эквивалентные электрические цепи (Rs – сопротивление раствора; CPE – элемент постоянной фазы (заменяет емкость). Rct – сопротивление переноса заряда; W – элемент Варбурга)

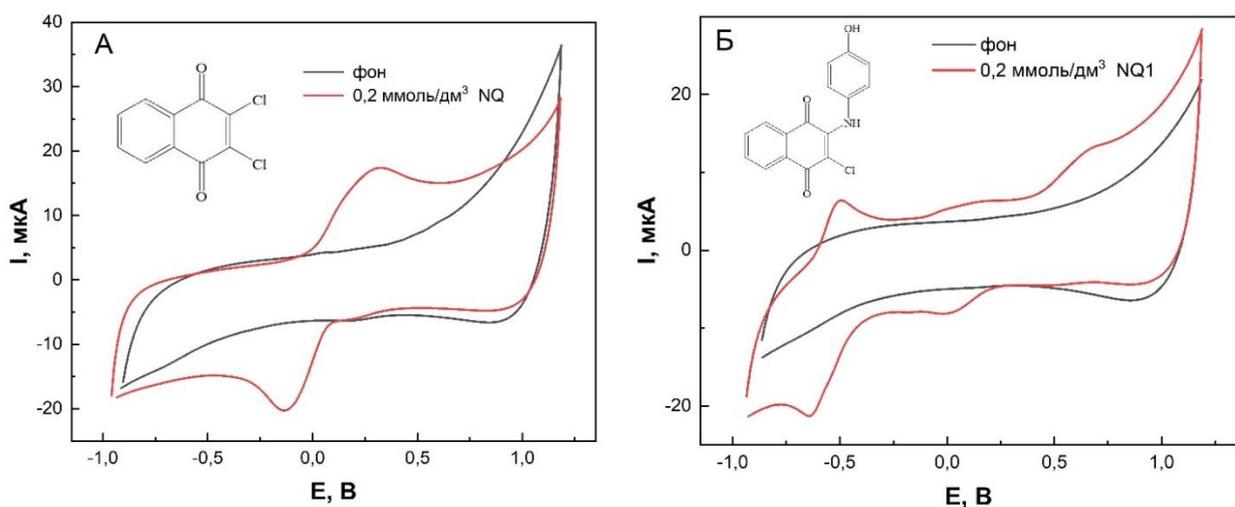
В фосфатном буферном растворе присутствуют только сольватированные ионы, которые отвечают за наличие емкости ДЭС. При внесении метки [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>/[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> появляется компонента, которая проходит через ДЭС и может диффундировать вблизи поверхности электрода. Импедансный спектр ИМГЭ в растворе 5 ммоль/дм<sup>3</sup> [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>/[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> КСl в координатах Найквиста представлен на рисунке 10Б. Полученный спектр соответствует эквивалентной электрической цепи (рисунке 10Б Вставка). Правильность подобранной схемы подтверждается малыми значениями ошибок элементов смоделированной цепи, менее 5 % и значением критерия  $\chi^2 = 4 \cdot 10^{-4}$ . Значение Rct составляет 6,94 кОм и является приемлемым для проведения измерений на ИМГЭ.

#### 4.2 Исследование электрохимических свойств производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ

Для исследования электрохимических свойств производных 1,4-нафтохинона, таких как NQ, NQ1 и NQS, использовалась циклическая вольтамперометрия. Индикаторным электродом служил импрегнированный

графитовый электрод (ИМГЭ). В качестве вспомогательного и электрода сравнения применялись хлорид-серебряные электроды. Опыт проводился в спиртовом растворе  $\text{NaClO}_4$  с концентрацией  $0,1 \text{ моль/дм}^3$  при  $\text{pH} = 4$ . Выбранный диапазон потенциалов составлял от  $-1$  до  $1,2 \text{ В}$ .

Циклические вольтамперограммы анализируемых соединений NQ, NQ1 и NQS, представленные на рисунке 11, демонстрируют четко выраженные пики, соответствующие окислению и восстановлению различных функциональных групп. Общая пара пиков, у веществ NQ, NQ1 и NQS, вызванная электроокислением-восстановлением хиноидной группы, расположена в диапазоне потенциалов от  $-0,15$  до  $0,65 \text{ В}$ . Значительная разница в положении, а также величине пиков электроокисления-восстановления хиноидной группы объясняется влиянием электронных и пространственных эффектов заместителей в молекуле 1,4-нафтохинонов. Несмотря на то, что заместитель не сопряжен с хиноидной группой напрямую, эффект замещения анилиновой системы на электрохимическое поведение 1,4-нафтохинонов очевиден. В результате введения заместителей наблюдается смещение пиков электроокисления и восстановления хиноидной группы на более положительные значения для соединений NQ1 и NQS. Кроме того, у веществ NQ1 и NQS выявлена еще одна пара пиков, связанная с электроокислением и восстановлением иминогруппы, а также один пик для NQ1, относящийся к процессу электроокисления гидроксильной группы.



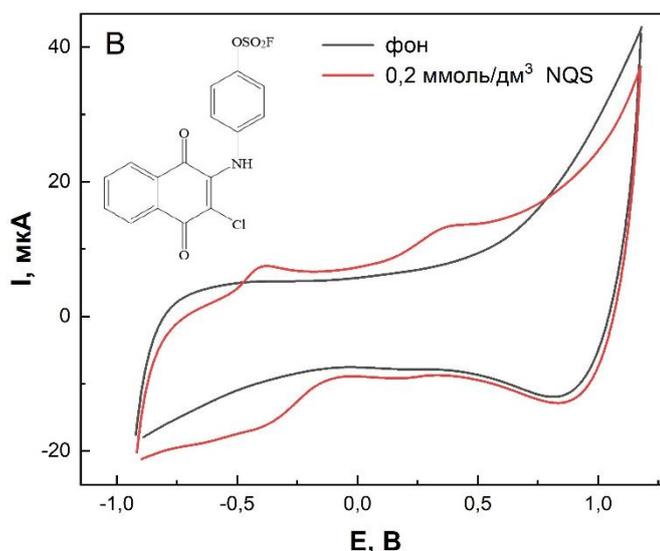


Рисунок 11 – Циклические вольтамперограммы А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS в спиртовом растворе  $0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ NaClO}_4$  ( $\text{pH}=4,0$ ) на ИМГЭ относительно ХСЭ ( $1 \text{ моль/дм}^3 \text{ KCl}$ );  $V=100 \text{ мВ/с}$

В таблице 4 представлены значения потенциалов анодных и катодных пиков исследуемых производных 1,4-нафтохинона.

Таблица 4 – Значения потенциалов анодных и катодных пиков исследуемых производных 1,4-нафтохинона

Вещество	Функциональная группа	$E_{\text{па}}, \text{ В}$	$E_{\text{пк}}, \text{ В}$
NQ	<b>Хиноидная</b>	$0,26 \pm 0,05$	<b><math>-0,13 \pm 0,05</math></b>
NQ1	<b>Имино</b>	<b><math>-0,51 \pm 0,05</math></b>	$-0,65 \pm 0,05$
	<b>Хиноидная</b>	$0,64 \pm 0,05$	$0,03 \pm 0,05$
	Гидроксильная	$0,14 \pm 0,05$	–
NQS	<b>Имино</b>	$-0,40 \pm 0,05$	<b><math>-0,36 \pm 0,05</math></b>
	<b>Хиноидная</b>	$0,36 \pm 0,05$	$0,18 \pm 0,05$

В рамках разработки вольтамперометрической методики количественного определения производных 1,4-нафтохинонов были выбраны следующие аналитические сигналы: катодный пик, связанный с электроокислением и восстановлением хиноидной группы (NQ), а также анодный и катодный пики,

результатирующие от электрохимических процессов иминогруппы (для NQ1 и NQS соответственно).

### **4.3 Исследование физико-химических закономерностей окисления-восстановления производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ**

Исследование механизмов окисления-восстановления веществ различной природы, имеет крайне важное значение для понимания процессов, протекающих на границе раздела фаз, включающих в себя передачу электронов, переноса протонов, а также возможность образования промежуточных продуктов реакции. Именно определение лимитирующей стадии, и как следствие всего механизма протекания процесса способствует не только более глубокому его пониманию, но и открывает новые пути для оптимизации реакционных условий и является одной из главных задач электрохимических методов анализа.

#### **4.3.1 Исследование адсорбционного характера электрохимического процесса**

Одним из ключевых факторов, влияющих на результаты вольтамперометрических измерений, является адсорбция исследуемых соединений на электродной поверхности. Процесс адсорбции особенно характерен для органических молекул, что обусловлено рядом причин, включая полярность и пространственную структуру молекул, а также свойств материала, из которого изготовлен электрод. Молекулы исследуемых производных 1,4-нафтохинона, помимо значительного размера, также содержат в своей структуре активные функциональные группы (-ОН, -NH<sub>2</sub>), что свидетельствует о значительно большей предрасположенности к адсорбции по сравнению с неактивными аналогами [151]. Поэтому в данном разделе будет рассмотрен вопрос о наличии адсорбции соединений NQ, NQ1 и NQS на поверхности ИМГЭ.

Для исследования адсорбционной природы электрохимического процесса необходимо проверить два критерия наличия адсорбции на поверхности электрода [152]:

1. Зависимость тока пика  $I$  от скорости сканирования потенциала  $V$  должна быть линейной.

2. Значение критерия Семерано по логарифмической зависимости тока пика  $I$  от скорости сканирования потенциала  $V$  должно быть равно или превышать 0,5.

Линейный характер графиков зависимости пикового тока от скорости сканирования потенциала для соединений NQ, NQ1 и NQS (рисунки 12А, 12Б, 12В) указывает на адсорбционный контроль электрохимического процесса у всех исследованных производных 1,4-нафтохинона.

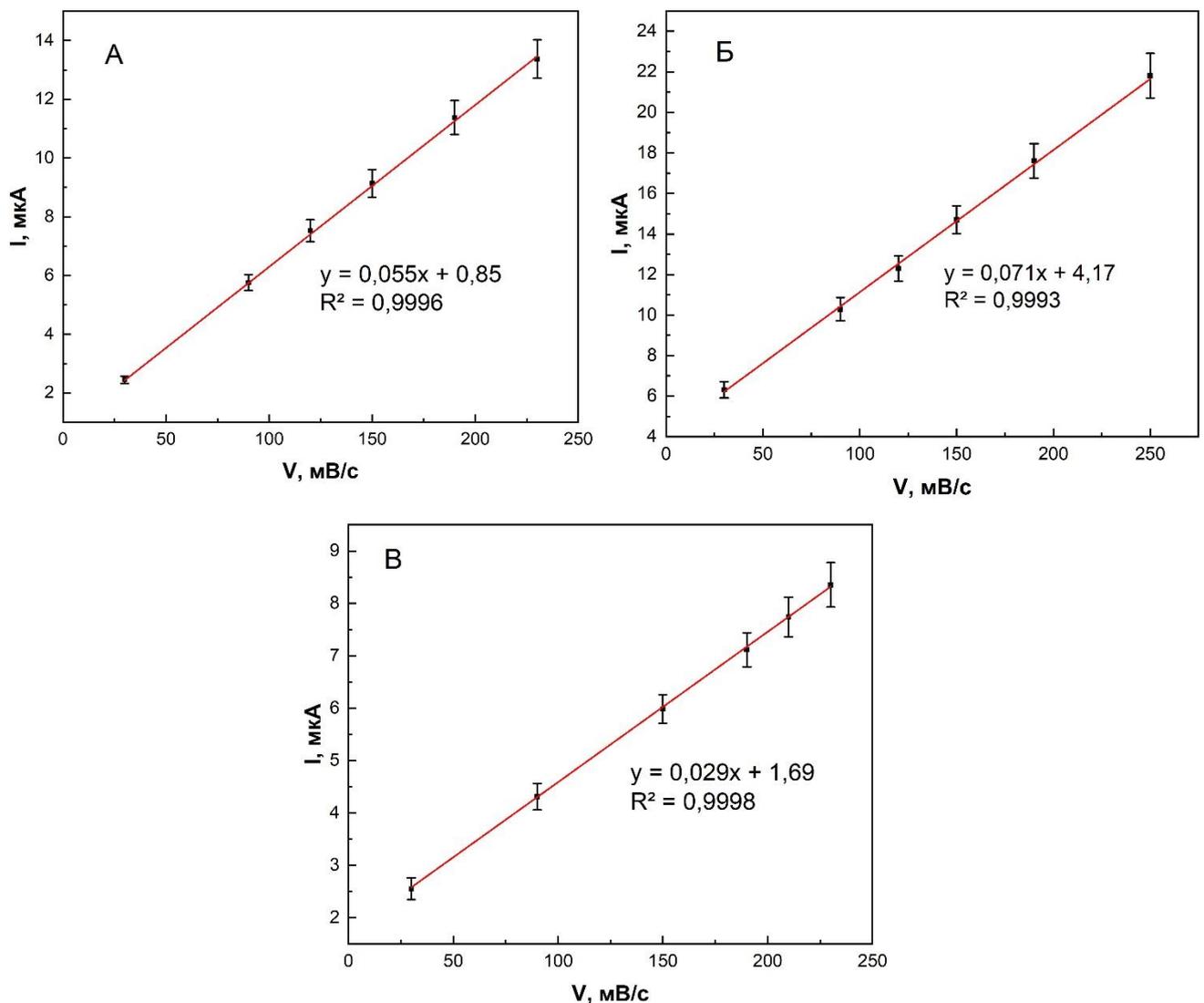


Рисунок 12 – Графики зависимости тока пика электровосстановления А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS от скорости сканирования потенциала в спиртовом растворе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub> на ИМГЭ относительно ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup> KCl)

Анализ адсорбционной составляющей процесса проводили на основе логарифмических зависимостей пикового тока от скорости развертки потенциала

(рисунок 13). Значения критерия Семерано, определенные как тангенсы углов наклона полученных прямых, равны 1,04 для NQ, 1,34 для NQ1 и 0,99 для NQS.

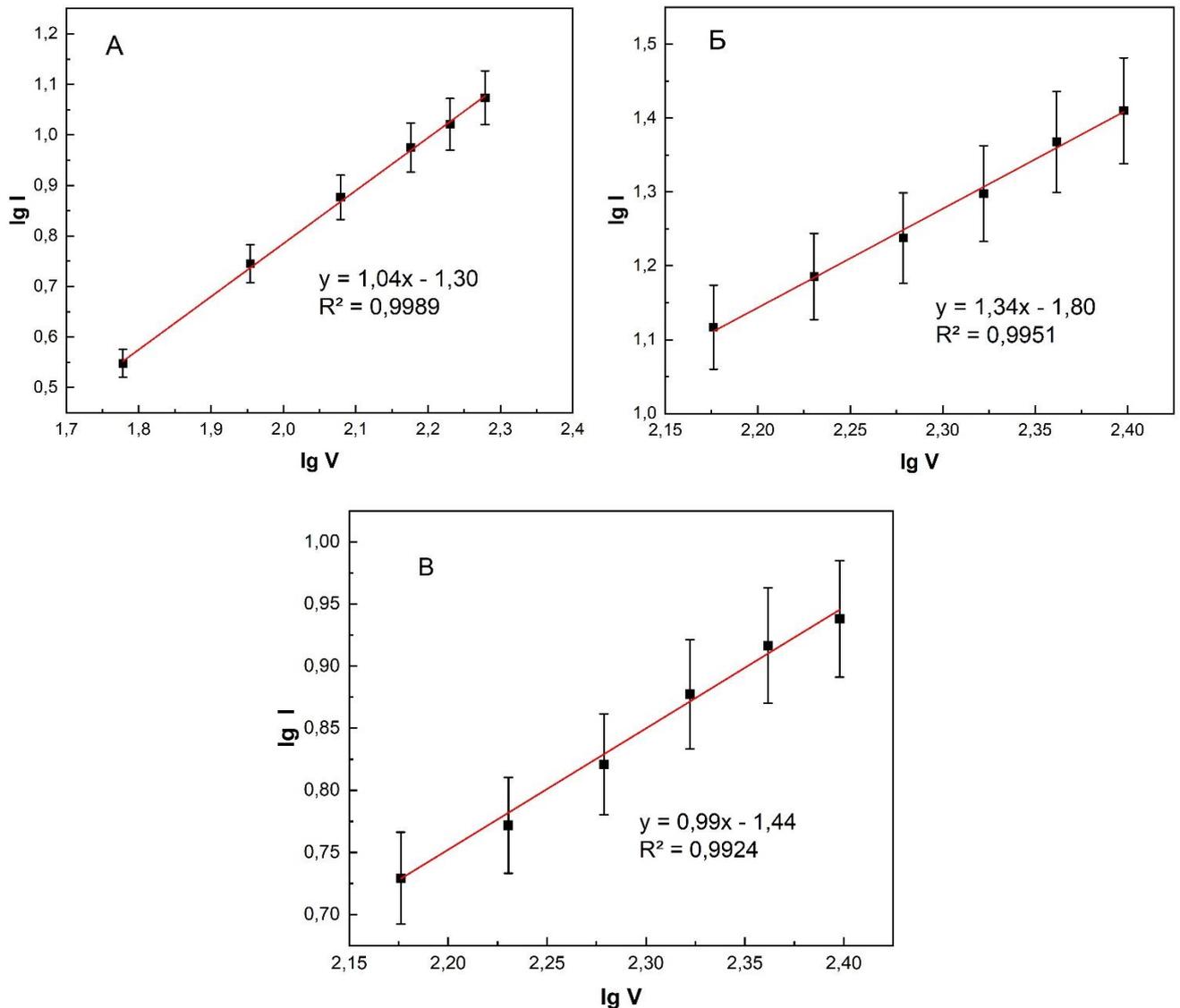


Рисунок 13 – Графики логарифмической зависимости тока пика электровосстановления А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS от скорости сканирования потенциала в спиртовом растворе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub> на ИМГЭ относительно ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup> KCl)

Анализ полученных данных указывает на наличие адсорбционного влияния на характер протекания электрохимического процесса для всех анализируемых соединений.

#### 4.3.2 Схема окисления-восстановления производных 1,4-нафтохинона

Анализируемые соединения NQ, NQ1 и NQS показывают четкие сигналы, соответствующие окислительно-восстановительным процессам различных функциональных групп в их структурах (раздел 4.2). Анализ формы циклических вольтамперограмм (рисунок 11) позволяет отнести окислительно-восстановительные процессы производных 1,4-нафтохинонов к обратимым или квазиобратимым. Для верификации обратимости систем использовали диагностические критерии [153]:

1. Разница потенциалов катодного и анодного пиков  $\Delta E_p$  (формула 5).

Для обратимых процессов выполняется соотношение, не зависящее от скорости сканирования.

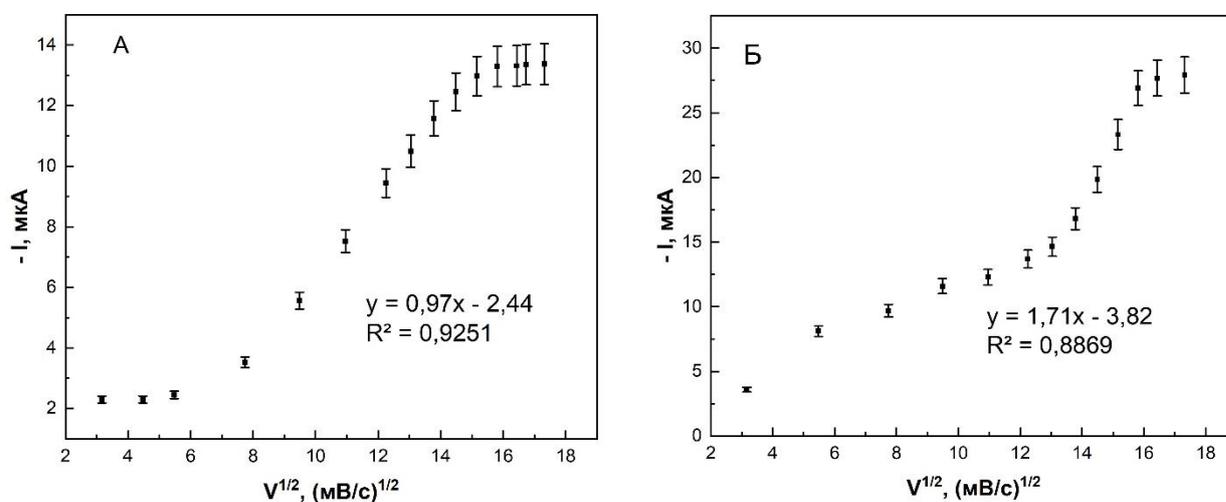
$$\Delta E_p = E_a - E_k = 2,22 \frac{RT}{zF} = \frac{0,058}{z} \quad (5)$$

При квазиобратимости величина  $\Delta E_p$  изменяется с ростом скорости сканирования потенциала.

2. Зависимость тока пика от скорости развертки потенциала

Для обратимых и необратимых систем ток  $I$  прямо пропорционален  $V^{1/2}$ . Квазиобратимые процессы не подчиняются этой линейной зависимости.

Чтобы изучить обратимость электровосстановления соединений NQ, NQ1 и NQS, была построена зависимость их тока электровосстановления от  $V^{1/2}$  (рисунок 14) [154]. Для всех исследуемых соединений эта зависимость  $I=f(V^{1/2})$  оказалась нелинейной.



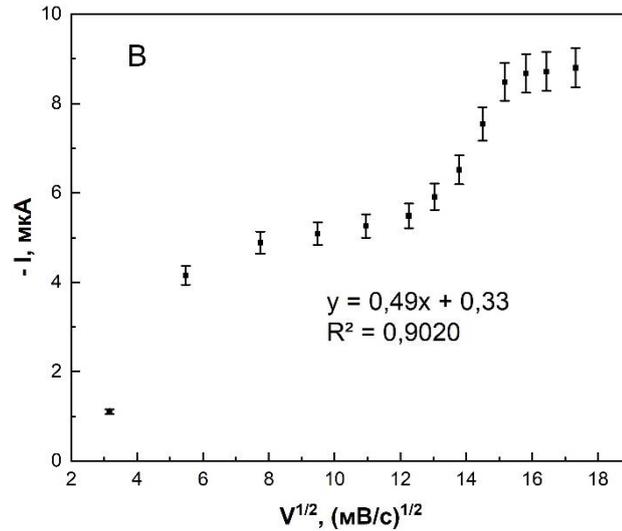
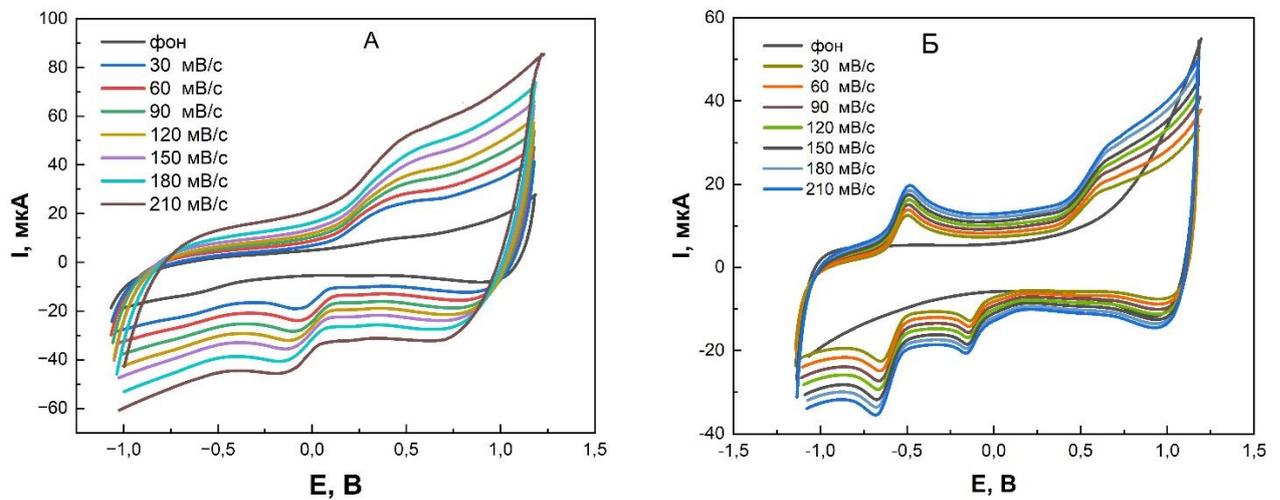


Рисунок 14 – Графики зависимости тока восстановления А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS от  $V^{1/2}$  в спиртовом растворе  $0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ NaClO}_4$  на ИМГЭ относительно ХСЭ ( $1 \text{ моль/дм}^3 \text{ KCl}$ )

При этом разность потенциалов  $\Delta E_p$  слабо зависит от скорости развертки потенциала (рисунок 15). На основании полученных данных можно сделать вывод о квазиобратимости протекания электрохимического процесса для NQ, NQ1 и NQS на ИМГЭ.



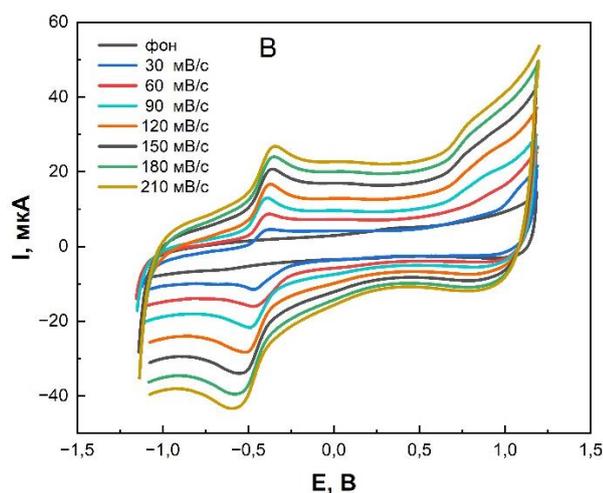


Рисунок 15 – Циклические вольтамперограммы А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS при различной скорости развертки потенциала в спиртовом растворе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub> (рН=4,0) на ИМГЭ относительно ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup> KCl)

#### 4.3.3. Расчет числа электронов участвующих в электрохимической реакции

Определение числа электронов, участвующих в электрохимической реакции, является ключевым аспектом для понимания схемы окислительно-восстановительных процессов. Известно, что обратимость протекания электрохимического процесса значительно зависит от скорости изменения потенциала. При увеличении скорости сканирования потенциала наблюдается тенденция к снижению обратимости реакции, то есть процесс становится необратимым, что проявляется в виде ассиметричной формы циклических вольтамперограмм. Это свидетельствует о недостаточном количестве времени для достижения равновесного состояния окисленной и восстановленной форм вещества и является характерным признаком необратимости [155].

Уменьшение скорости сканирования потенциала создает условия, при которых квазиобратимые процессы могут быть аппроксимированы как обратимые. Для расчета числа электронов ( $z$ ), переносимых в электрохимической реакции, необходимо использовать соотношение разности потенциалов анодного ( $E_a$ ) и катодного ( $E_k$ ) пиков для обратимого процесса (формула 6) [153]:

$$\Delta E_p = E_a - E_k = 2,22 \frac{RT}{zF} = \frac{0,058}{z} \quad (6)$$

Экспериментальные исследования проводили методом циклической вольтамперометрии при скорости развертки потенциала 10 мВ/с. Установлено, что в реакциях окисления-восстановления хиноидной группы (NQ) и иминогруппы (NQ1) переносится по 2 электрона. Для вещества NQS в процессе окисления-восстановления иминогруппы число электронов равно 1. Предложены электрохимические схемы превращений для NQ (согласующиеся с литературой [156]), а также для иминогрупп соединений NQ1 и NQS (рисунок 16).

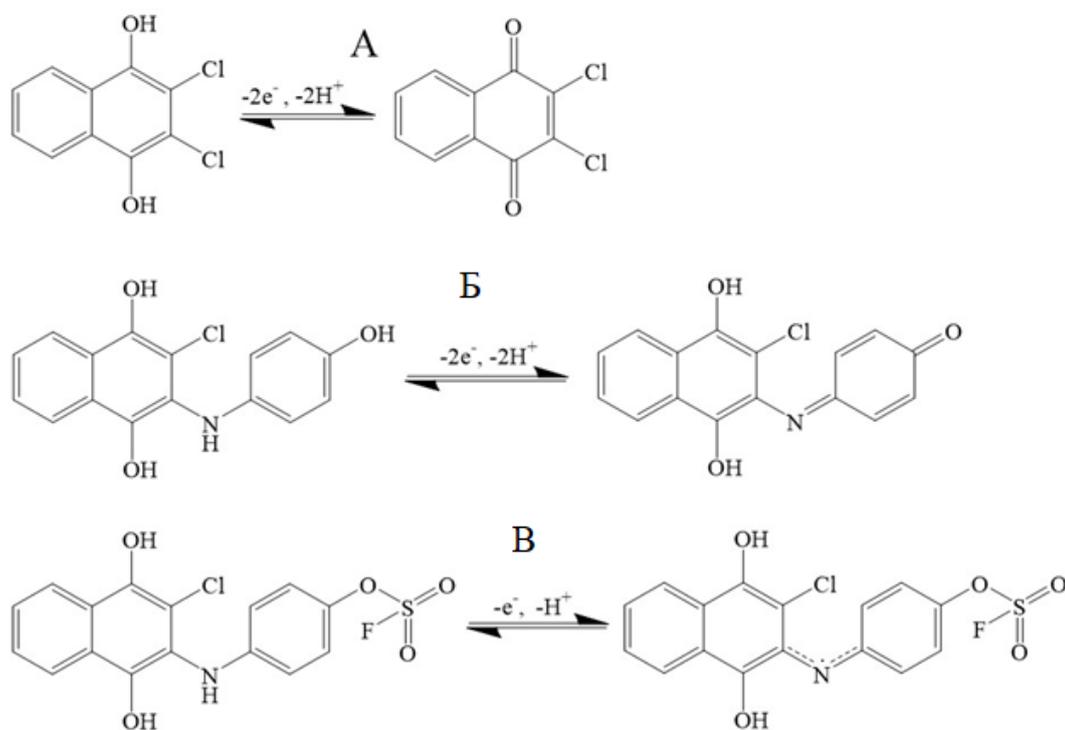


Рисунок 16 – Схема окисления-восстановления А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS на

ИМГЭ

#### 4.4 Исследование влияния различных факторов на аналитические сигналы производных 1,4-нафтохинона

Разработка вольтамперометрической методики количественного анализа производных 1,4-нафтохинона требует исследования влияния ключевых параметров на электрохимический сигнал. К таким параметрам относятся рН фонового электролита, время накопления (электролиза) и приложенный потенциал накопления.

#### 4.4.1 Исследование влияния pH фонового электролита

Основным фактором, способствующим пониманию поведения производных 1,4-нафтохинона, а также оказывающим влияние на положение аналитического сигнала и его интенсивность является pH фонового электролита. Необходимое значение pH фонового электролита создавали прибавлением к фоновому электролиту растворов 1 моль/дм<sup>3</sup> соляной кислоты (HCl) и 1 моль/дм<sup>3</sup> гидроксида натрия (NaOH), и производили регистрацию изменения pH с помощью pH-метра.

Полученные данные показали (рисунок 17), что изменение pH фонового электролита существенно влияет на форму и величину аналитических сигналов. При смещении pH фонового электролита из нейтральной в сильноокислую область (от 6 до 1) наблюдается значительный рост катодного пикового тока NQ с одновременным улучшением формы сигнала. Это свидетельствует об увеличении реакционной способности соединения в кислых условиях. Максимальная интенсивность катодного пика для NQ достигается при pH = 2. Напротив, при переходе к щелочной среде (pH 6–12) амплитуда катодного тока NQ резко снижается. Данная зависимость объясняется участием ионов водорода (H<sup>+</sup>) в электрохимическом восстановлении, которое протекает эффективнее при низких значениях pH [157]. Кроме того, при нейтральном и щелочном pH фонового электролита наблюдалось смещение пиков на более низкие значения потенциалов, что может быть связано с образованием менее реакционноспособных и электроактивных форм соединения.

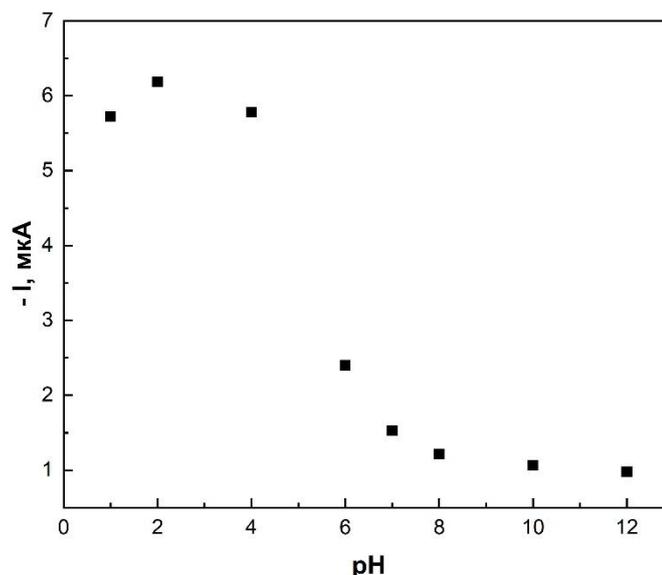


Рисунок 17 – Зависимость тока электровосстановления NQ от pH раствора фонового электролита

Для производных нитрозамещенных 1,4-нафтохинонов NQ1 и NQS проводилось исследование влияния pH раствора фонового электролита на анодный и катодный пик, вызванные электроокислением-восстановлением иминогруппы (NQ1 и NQS соответственно). Результаты показали, что изменение pH раствора фонового электролита оказывает значительное влияние на величину аналитических сигналов, вызванных электроокислением-восстановлением иминогруппы NQ1 и NQS.

С увеличением pH фонового электролита от 2 до 12 наблюдается значительный рост интенсивности анодного тока пика NQ1 и катодного тока пика NQS, причем максимальное значение достигается при  $\text{pH} = 10$  (рисунок 18). Это объясняется тем, что в щелочной среде происходит стабилизация анионных форм иминогрупп, что в свою очередь способствует их большей активации, повышению реакционной способности, а также чувствительности аналитических сигналов [158, 159].

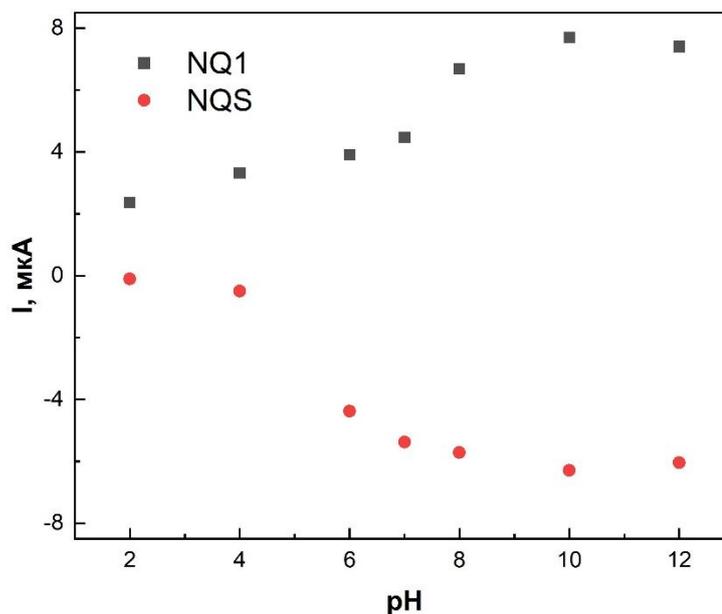


Рисунок 18 – Зависимость тока электроокисления NQ1; электровосстановления NQS от pH раствора фонового электролита в спиртовом растворе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub> на ИМГЭ относительно ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup> KCl); скорость сканирования потенциала 100 мВ/с

Для разработки методики вольтамперометрического определения производных 1,4-нафтохинона были выбраны значения pH 2,0 и 10,0 соответственно для веществ NQ, NQ1 и NQS.

#### 4.4.2 Исследование влияния времени и потенциала накопления

##### *Исследование потенциала накопления*

Исследование потенциала и времени накопления является одним из ключевых этапов при подборе условий для разработки аналитической методики определения различных веществ методом вольтамперометрии. Их оптимизация позволяет существенно улучшить чувствительность метода, избежать вмешательства посторонних веществ, минимизировать значение фонового сигнала, а также позволяет исследовать кинетические процессы окислительно-восстановительных реакций.

Рабочий потенциал накопления определяли методом линейной вольтамперометрии в диапазоне от -2 до +2 В при концентрации производных 1,4-нафтохинона 20 ммоль/дм<sup>3</sup>. Для соединения NQ амплитуда катодного пика прогрессивно увеличивалась при смещении потенциала накопления из

отрицательной области к положительной. График зависимости тока восстановления NQ от потенциала накопления (рисунок 19А) демонстрирует достижение максимальной интенсивности сигнала при значении +1 В с последующим выходом на плато. Для веществ NQ1 и NQS пиковые токи (анодный для NQ1 и катодный для NQS) достигали максимума при потенциалах накопления -1 В и -1,8 В соответственно (рисунок 19Б, В).

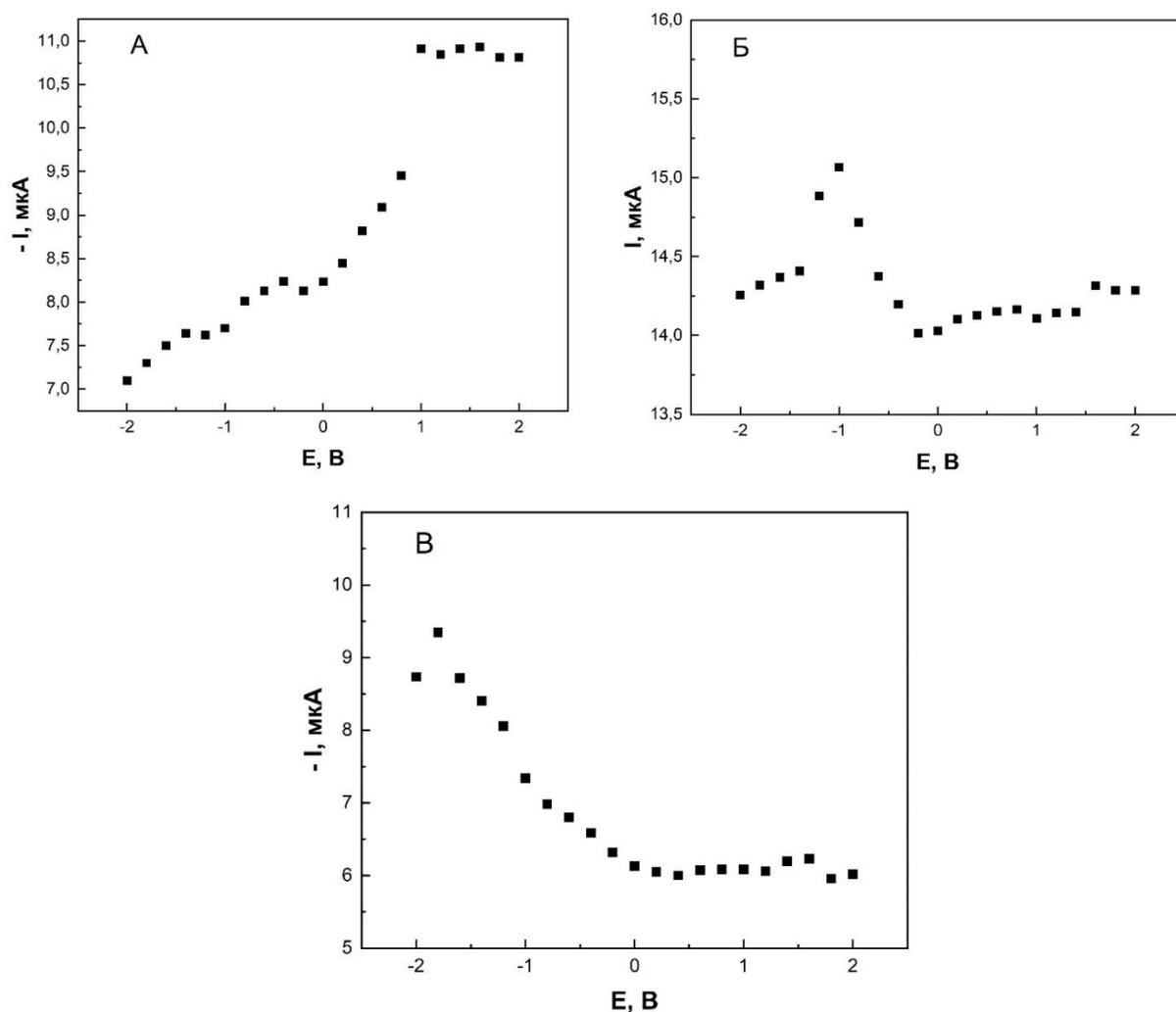


Рисунок 19 – Зависимость тока пика А) электровосстановления NQ; Б) электроокисления NQ1; В) электровосстановления NQS от потенциала накопления в спиртовом растворе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub> на ИМГЭ относительно ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup> KCl); скорость сканирования потенциала 100 мВ/с

#### *Исследование времени накопления*

Для определения рабочего времени накопления была исследована область значений от 0 до 100 с при установленных потенциалах накопления. С увеличением

времени накопления наблюдается рост интенсивности аналитических сигналов для всех анализируемых соединений. Максимальные значения интенсивности сигнала достигаются при времени накопления 50, 30 и 20 секунд для NQ, NQ1 и NQS соответственно (рисунок 20). Дальнейшее увеличение времени накопления не приводит к росту интенсивности сигналов.

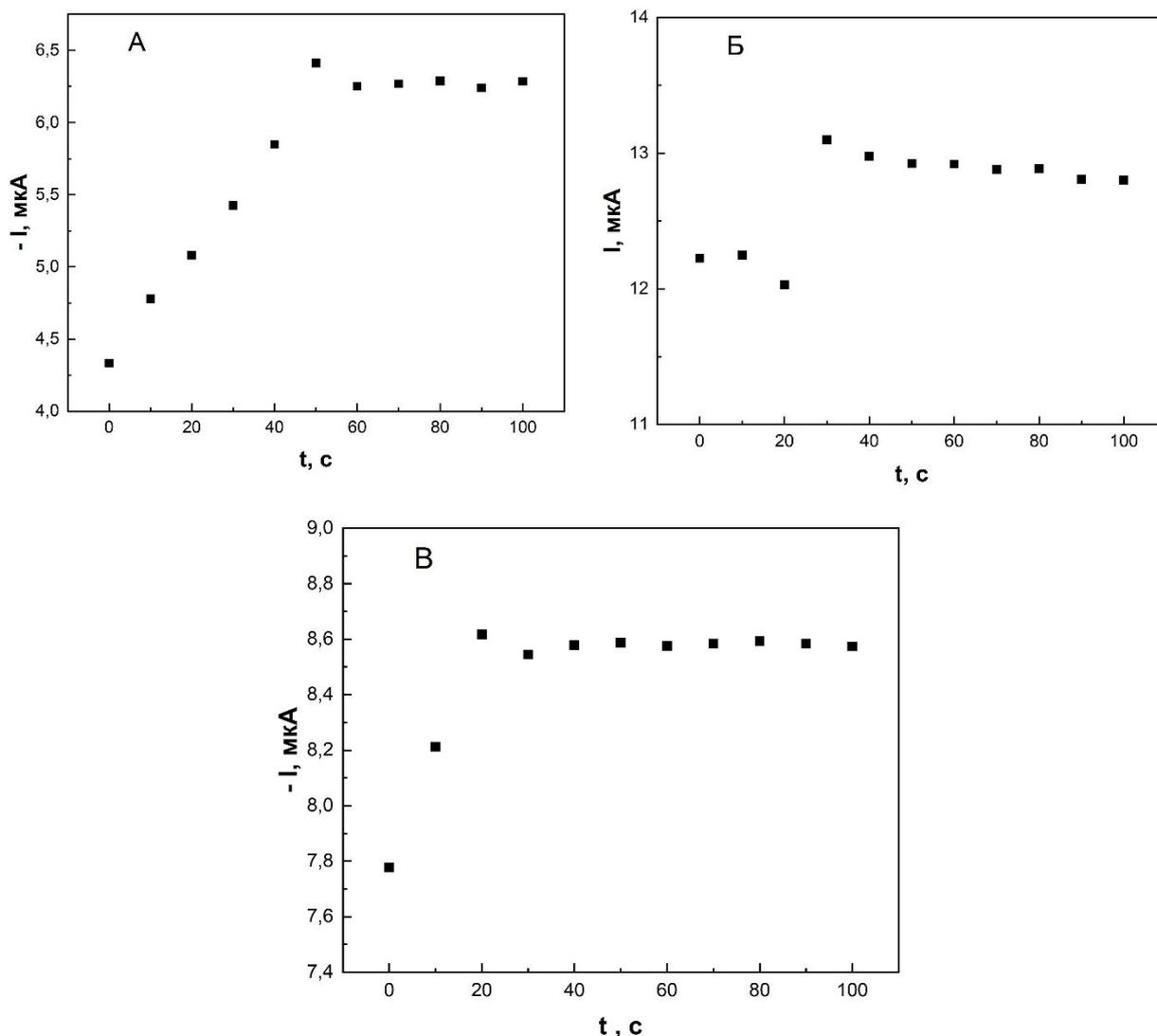


Рисунок 20 – Зависимость тока пика А) электровосстановления NQ; Б) электроокисления NQ1; В) электровосстановления NQS

от времени накопления в спиртовом растворе  $0,1 \text{ моль/дм}^3 \text{ NaClO}_4$  на ИМГЭ относительно ХСЭ ( $1 \text{ моль/дм}^3 \text{ KCl}$ ); скорость сканирования потенциала  $100 \text{ мВ/с}$

В соответствии с изложенным в данной главе были выбраны рабочие условия для определения NQ, NQ1 и NQS в модельных растворах на ИМГЭ (таблица 5).

Таблица 5 – Рабочие условия для определения NQ, NQ1 и NQS на ИМГЭ

Параметр	Рабочие условия		
	NQ	NQ1	NQS
Фоновый электролит	0,1 моль/дм <sup>3</sup> NaClO <sub>4</sub> спиртовой раствор		
Рабочий электрод	ИМГЭ		
Метод	Вольтамперометрия с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной		
Вспомогательный/сравнения электрод	Хлорид-серебряный электрод (1 моль/дм <sup>3</sup> KCl)		
Скорость сканирования, мВ/с	100		
pH	2	10	
Потенциал накопления, В	1	-1	-1,8
Время накопления, с	50	30	20

#### 4.5 Построение градуировочных зависимостей значения аналитического сигнала от концентрации анализируемых соединений в модельном растворе методом вольтамперометрии

Для разработки методики количественного определения анализируемых производных 1,4-нафтохинона (NQ, NQ1 и NQS) в субстанции были выбраны следующие аналитические сигналы: катодный пик, вызванный электроокислением-восстановлением хиноидной группы (NQ) при потенциале  $(-0,13 \pm 0,05)$  В, анодный пик  $(-0,51 \pm 0,05)$  В и катодный пик  $(-0,36 \pm 0,05)$  В, вызванные электроокислением-восстановлением иминогруппы (NQ1 и NQS соответственно).

Все анализируемые соединения при выбранных рабочих условиях дают четкие, хорошо воспроизводимые сигналы как в катодной, так и в анодной области. На рисунке 21 представлены вольтамперограммы выбранных в качестве аналитических сигналов пиков окисления-восстановления анализируемых соединений, полученные методом вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной.

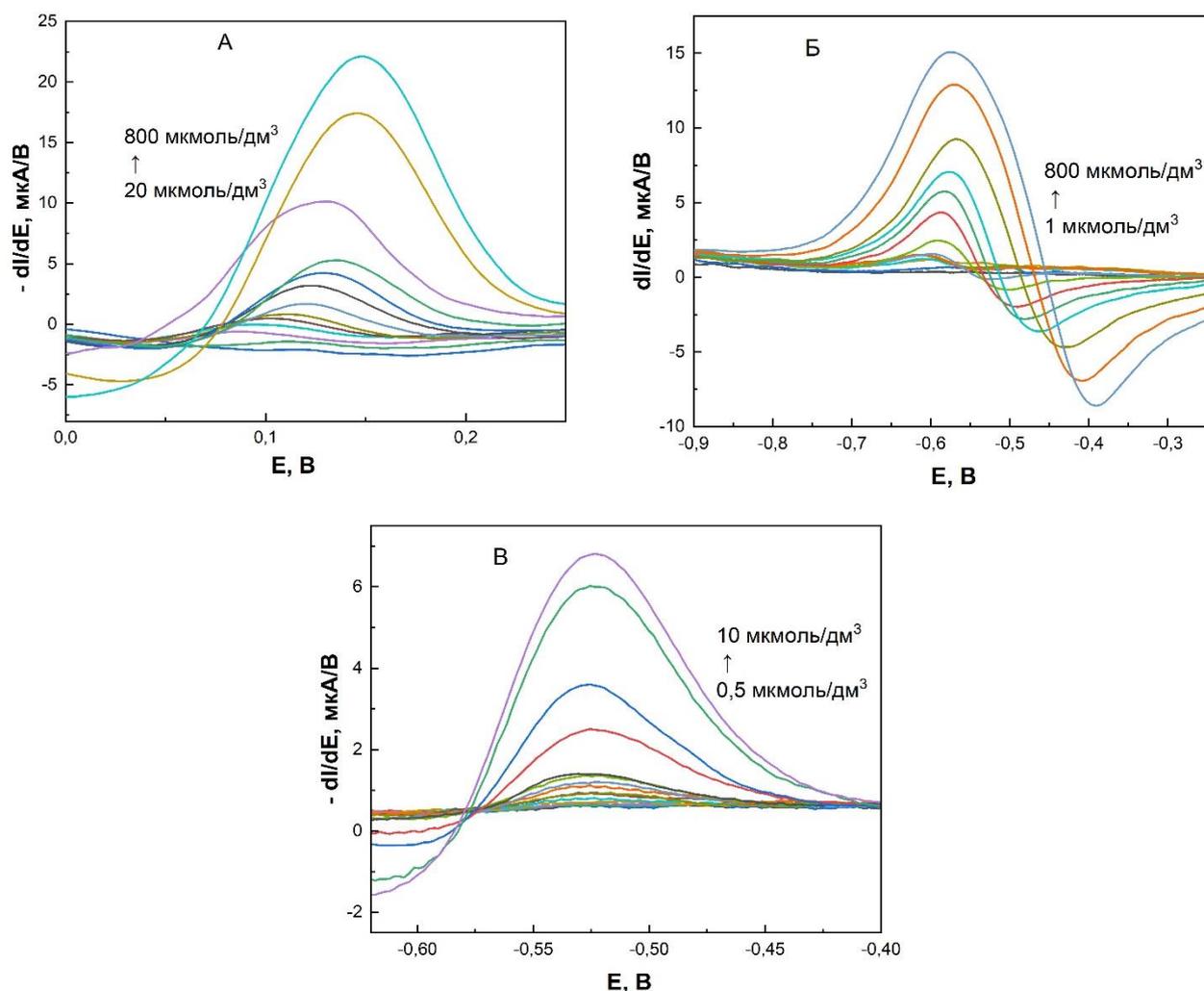


Рисунок 21 – А) катодные вольтамперограммы NQ в диапазоне концентраций  $2 \cdot 10^{-5}$ – $8 \cdot 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>; Б) анодные вольтамперограммы NQ1 в диапазоне концентраций  $1 \cdot 10^{-6}$ – $8 \cdot 10^{-4}$  моль/дм<sup>3</sup>; В) катодные вольтамперограммы NQS в диапазоне концентраций  $5 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-5}$  моль/дм<sup>3</sup> в спиртовом растворе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub> на ИМГЭ относительно ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup> KCl); скорость сканирования потенциала 100 мВ/с

После подбора рабочих условий для вольтамперометрического определения NQ, NQ1 и NQS получены градуировочные зависимости значения аналитического сигнала от концентрации анализируемых соединений методом вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной в модельном растворе (рисунок 22). Графики носят линейный характер в заявленных диапазонах концентраций.

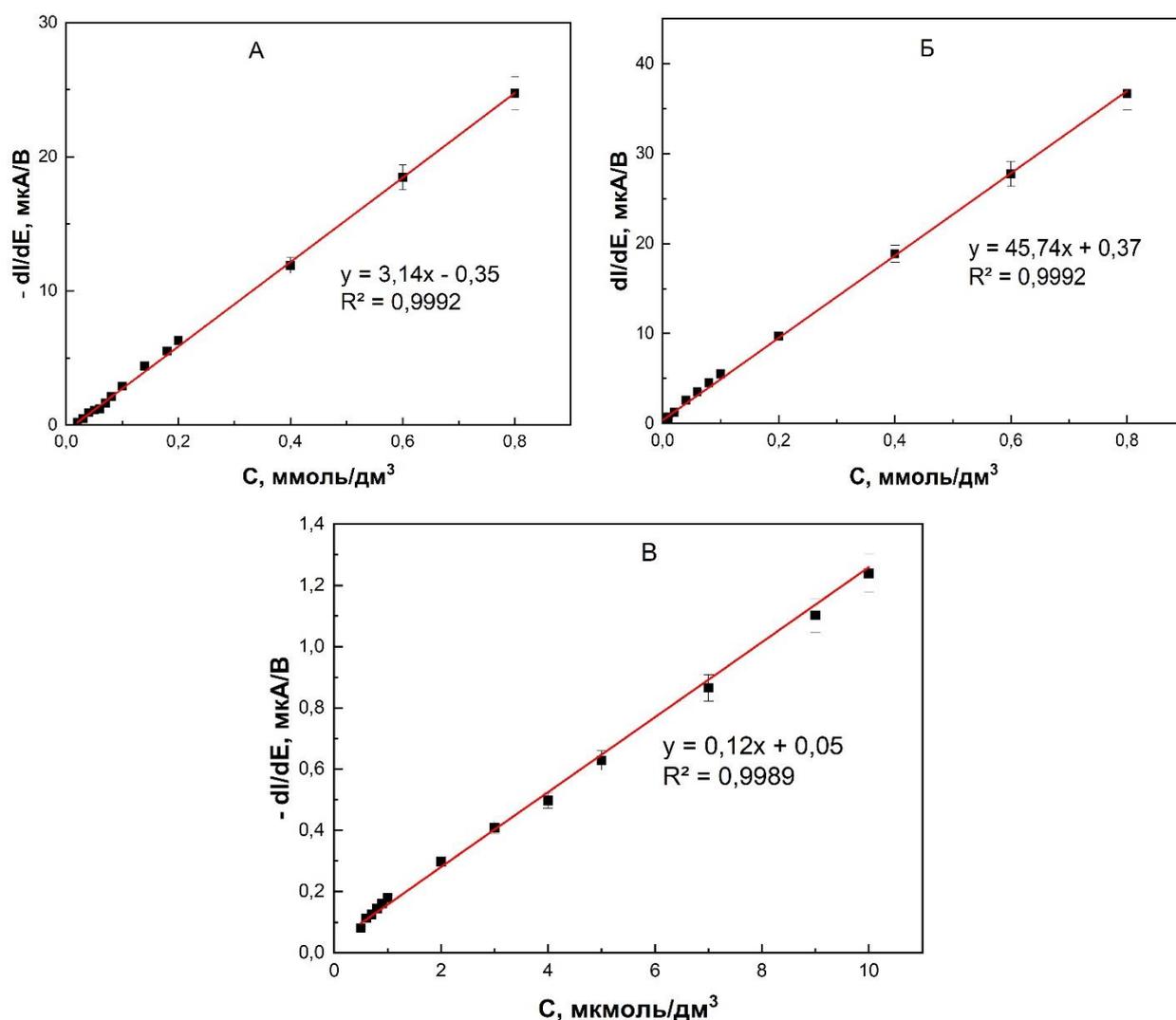


Рисунок 22 – Зависимость тока А) электровосстановления NQ (рН 2,0) Б) электроокисления NQ1 (рН 10,0) В) электровосстановления NQS (рН 10,0) от концентрации в спиртовом растворе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub> на ИМГЭ относительно ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup> KCl); скорость сканирования потенциала 100 мВ/с  
Характеристики индивидуального количественного определения NQ, NQ1, NQS представлены в таблице 6.

Таблица 6 –Характеристики индивидуального количественного определения NQ, NQ1, NQS в модельных растворах (n=5; P=0,95)

Вещество	Потенциал, В	Уравнение регрессии	Диапазон определяемых концентраций, мкмоль/дм <sup>3</sup>	Предел обнаружения, мкмоль/дм <sup>3</sup>
NQ	0,12	$y=3,14x-0,35$ ( $R^2=0,9992$ )	20–800	7,2

NQ1	-0,58	$y=45,74x+0,37$ ( $R^2=0,9992$ )	1–800	0,8
NQS	-0,53	$y=0,12x+0,05$ ( $R^2=0,9989$ )	0,5–10	0,086

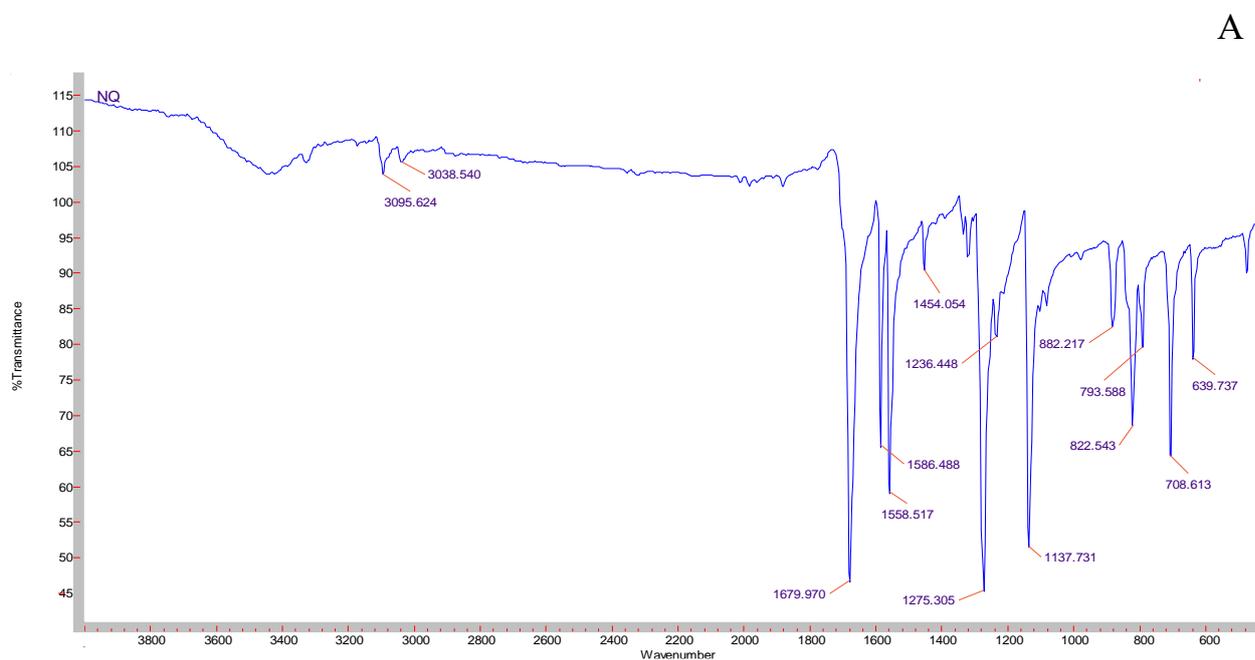
Таким образом, в данной главе показана возможность определения производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ методом вольтамперометрии.

## ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ОПТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА

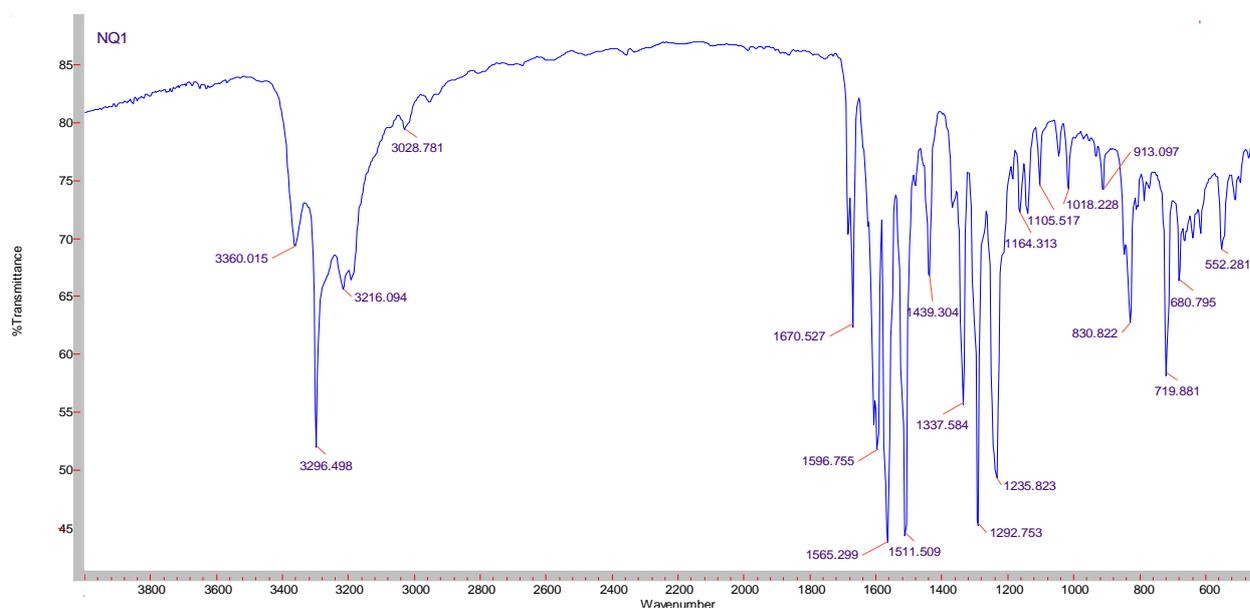
### 5.1 ИК-спектроскопия

Использование метода инфракрасной спектроскопии (ИК-спектроскопии) для анализа сложных биологических образцов, а также лекарственных субстанций активно находит применение в различных областях включая фармацевтическую промышленность, биомедицинские исследования и экологическую оценку. Молекулярные связи с электрическим дипольным моментом, который может изменяться при смещении атомов за счет собственных колебаний, являются ИК-активными. Эти колебания поддаются количественному измерению с помощью ИК-спектроскопии, представляя инструмент для изучения молекулярного состава и динамики без нарушения образца [160].

Для проверки и анализа исследуемых соединений был выбран метод ИК-спектроскопии. На рисунке 23 приведены ИК-спектры анализируемых соединений в KBr.



Б



В

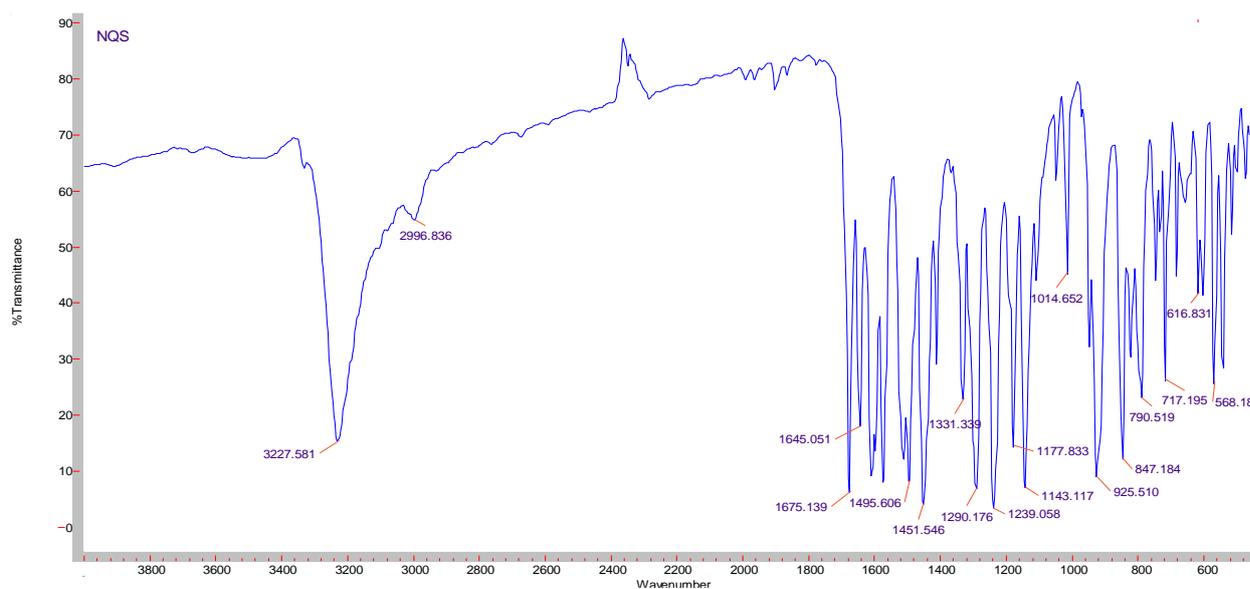


Рисунок 23 – ИК-спектры А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS в KBr

Так как все исследуемые соединения имеют в своей структуре бензольный фрагмент, ИК-спектроскопия показала характерные полосы поглощения для фенильной группы: валентные ( $3100\text{--}2950\text{ см}^{-1}$ ), плоскостные ( $1300\text{--}1000\text{ см}^{-1}$ ) и внеплоскостные деформационные ( $900\text{--}675\text{ см}^{-1}$ ) колебания C-H, а также обертоны  $2000\text{--}1650\text{ см}^{-1}$  и скелетные колебания C-C-цикла ( $1600\text{--}1585$  и  $1500\text{--}1400\text{ см}^{-1}$ ). Кроме того, общими являются полосы поглощения, вызываемые валентными и деформационными колебаниями C-CO-C ( $1300\text{--}1200\text{ см}^{-1}$ ), валентными

колебаниями C=O с интенсивным поглощением в области 1870–1540 см<sup>-1</sup>, а также валентными колебаниями связи C-Cl в области 1100–1040 см<sup>-1</sup>.

Для соединений NQ1 и NQS наблюдаются полосы поглощения, вызванные валентными (3350–3310 см<sup>-1</sup>), деформационными (1550–1450 см<sup>-1</sup>) и веерными (909–666 см<sup>-1</sup>) колебаниями связи N-H, а также полоса поглощения, вызванная валентными колебаниями связи C-O в области 1260–1000 см<sup>-1</sup>.

Для соединения NQ1 стоит отметить также появление полос поглощения, обусловленных валентными (3350–3330 см<sup>-1</sup>) и плоскостными деформационными (1420–1330 см<sup>-1</sup>) колебаниями связи O-H.

Для NQS характерны две интенсивные полосы поглощения в области 1350–1300 и 1160–1120 см<sup>-1</sup>, обусловленные антисимметричными и симметричными валентными колебаниями группы SO<sub>2</sub> соответственно и колебаниями в области, начиная с 1000 см<sup>-1</sup> от связи S-F.

В таблице 7 представлены основные группы и типы колебаний анализируемых веществ.

Таблица 7 – Основные группы и типы колебаний анализируемых веществ NQ, NQ1 и NQS

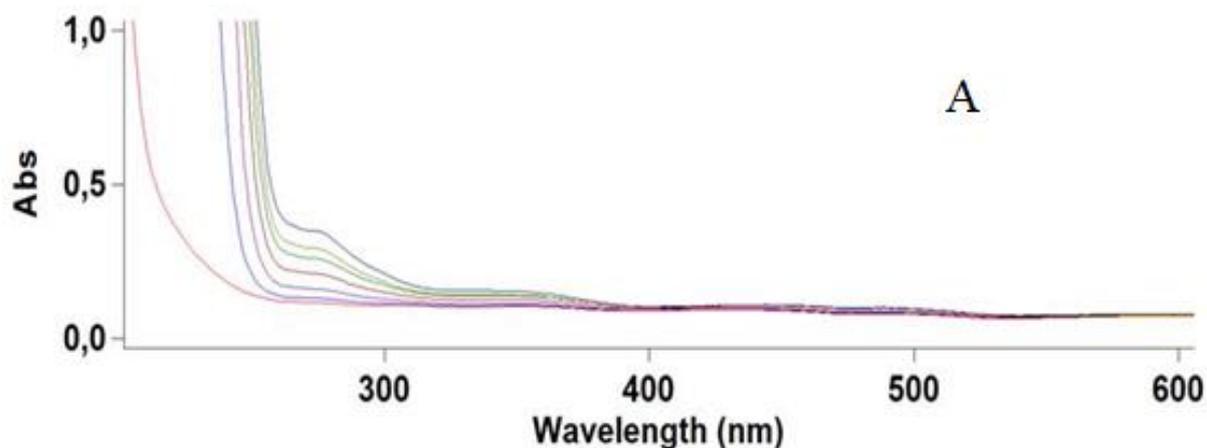
Вещество	Группы и типы колебаний		Диапазон частот (см <sup>-1</sup> )
NQ, NQ1 и NQS	C-H	Υ	3100–2950
		плоскостные δ	1300–1000
		внеплоскостные δ	900–675
	Обертоны		2000–1650
	скелетные колебания C-C-цикла		1600–1585 и 1500–1400
	C-CO-C	Υ	1300–1200
	C=O	Υ	1870–1540
	C-Cl	Υ	1100–1040
NQ1 и NQS	N-H	Υ	3350–3310
		Δ	1550–1450
		Веерные	909–666

	C-O	Y	1260–1000
NQ1	O-H	Y	3350–3330
		плоскостные $\delta$	1420–1330
NQS	SO <sub>2</sub>	$\nu$ ассим.	1350–1300
		$\nu$ симм.	1160–1120
	S-F	Y	с 1000

ИК-спектроскопия является надежным инструментом для подтверждения подлинности различных классов соединений, что представляет особую значимость при разработке новых молекул с различными видами биологической активности.

## 5.2 Изучение оптических свойств анализируемых соединений методом спектрофотометрии

Для анализа оптических характеристик исследуемых производных 1,4-нафтохинона в 96 % этиловом спирте были получены их УФ-спектры в области 200–800 нм (рисунок 24).



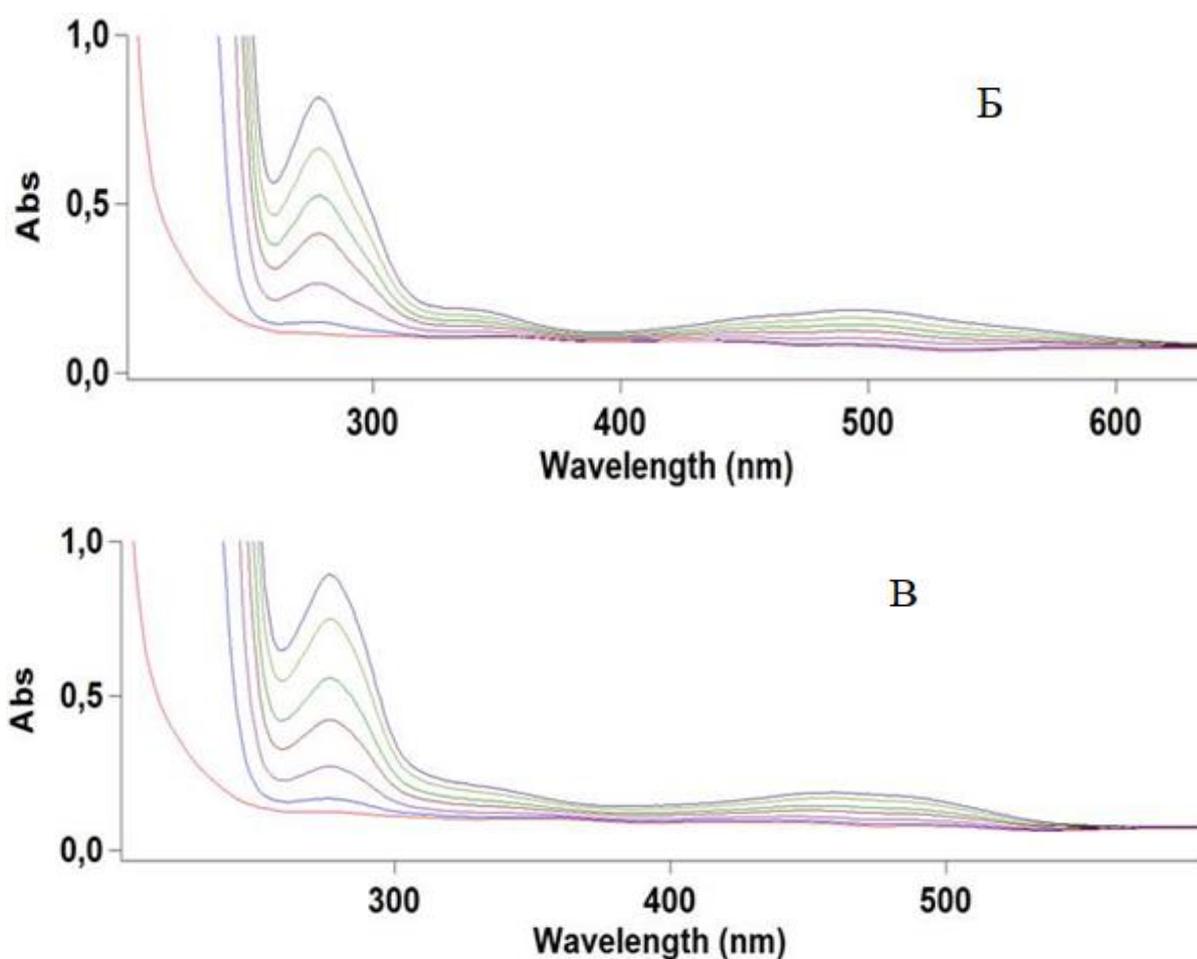


Рисунок 24 – Спектры поглощения А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS в этиловом спирте с концентрацией анализируемых веществ от 5 до 20 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Электронные переходы в молекулах производных 1,4-нафтохинона обусловлены нафталиновыми и кетонными группами, входящими в структуру соединений. Однако, любые структурные изменения, такие как введение различных групп заместителей, могут оказывать значительное влияние на энергетические уровни и соответственно на спектры поглощения [161].

При поглощении света в молекулах исследуемых соединений наблюдается несколько типов электронных переходов. Интенсивному  $\pi \rightarrow \pi^*$  электронному переходу в бензоле и нафтохиноне, в котором происходит возбуждение  $\pi$  электронов на более высокий энергетический уровень  $\pi^*$  соответствует полоса поглощения в области 250–280 нм [162]. Введение в бензольное кольцо хромофорной или ауксохромной группы приводит к батохромному сдвигу (сдвиг в сторону более длинных волн) данной полосы поглощения и увеличению её

интенсивности (гиперхромный эффект), именно это и наблюдается для соединений NQ1 и NQS.

Кроме того, на спектрах поглощения анализируемых соединений в области более длинных волн 330–350 нм наблюдается слабая полоса перехода  $n \rightarrow \pi^*$ . Этот тип перехода подразумевает переход не поделённых  $n$ -электронов от атомов кислорода в кетонной группе на  $\pi$  уровень.

Дополнительные пики в спектрах поглощения веществ NQ1 и NQS наблюдаются в виде широкой, однако, не слишком интенсивной полосы поглощения в видимой области, находящейся между 470 и 500 нм. Данная полоса поглощения типична для amino замещённых производных 1,4-нафтохинона, и в сравнении со спектром 1,4-нафтохинона, смещена в видимую область, что указывает на сильное влияние заместителей (гипсохромный сдвиг), особенно сильно заметно данное смещение для NQS.

### **5.3 Исследование влияния pH фонового раствора на положение максимума поглощения и его интенсивность методом спектрофотометрии**

Анализируемые производные 1,4-нафтохинона демонстрируют специфическое поведение в зависимости от кислотно-основного баланса фонового раствора. Как видно из рисунка 25, смещение среды в щелочную область (рост pH) вызывает значительное ослабление полосы поглощения с  $\lambda_{\max} = 280$  нм (гипохромный эффект). Наибольшая интенсивность этого пика регистрируется при  $\text{pH} = 4$  для всех исследованных соединений. При большем подкислении раствора ( $\text{pH} < 4$ ), максимальная интенсивность пика поглощения не только остается сопоставимой с  $\text{pH} = 4$ , но и также может незначительно снижаться. Это может быть связано с тем, что при данном значении pH, молекулы анализируемых соединений находятся в наиболее стабильной протонированной форме, что способствует эффективным электронным переходам, наблюдаемым при поглощении света.

Также, стоит отметить интересный факт, что изменение pH фонового раствора не оказывает влияния на длину волны максимума поглощения, её смещение происходит на  $\pm 2$  нм. Это наблюдение указывает на отсутствие

батохромного и гипсохромного сдвига в условиях изменения кислотно-основного баланса, что в свою очередь определяет стабильность электронной конфигурации молекул анализируемых соединений в интервале изменения рН фонового раствора [163].

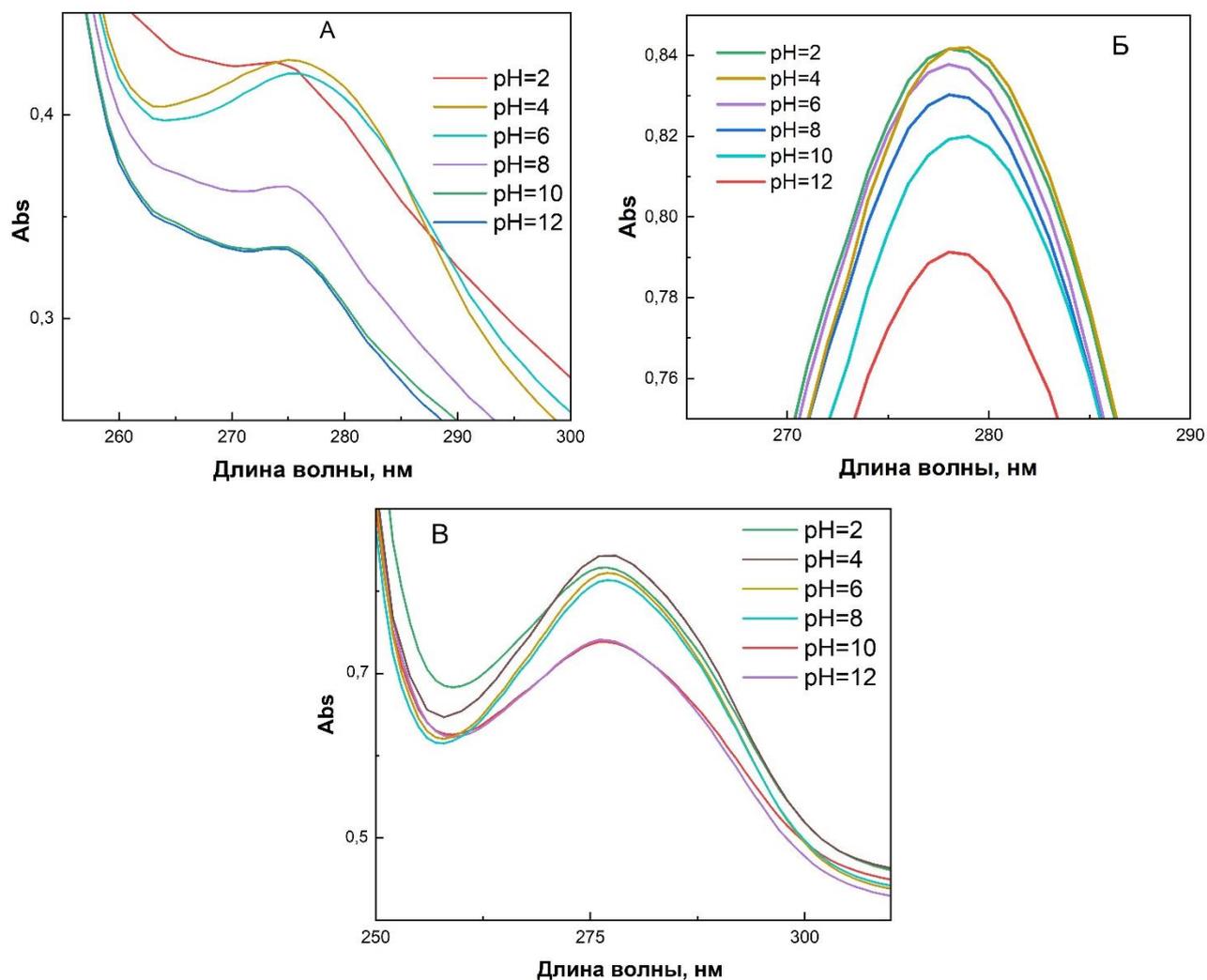


Рисунок 25 – Спектры поглощения А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS в этиловом спирте при различных рН с концентрацией анализируемых веществ 10 мкмоль/дм<sup>3</sup> (NQ) и 2 мкмоль/дм<sup>3</sup> (NQ1 и NQS) соответственно

#### 5.4 Построение градуировочных зависимостей значения аналитического сигнала от концентрации анализируемых соединений в модельном растворе методом спектрофотометрии

Для разработки количественной методики определения анализируемых производных 1,4-нафтохинона (NQ, NQ1 и NQS) в модельном растворе методом спектрофотометрии, в качестве аналитического сигнала был выбран пик

поглощения при длине волны 280 нм, так как он имеет более выраженную форму и интенсивность.

После подбора рабочего значения pH фонового раствора для определения анализируемых соединений были сняты спектры поглощения в зависимости от их концентрации в растворе. Из рисунка 26 видно, что увеличение интенсивности сигнала пика поглощения при длине волны 280 нм происходит прямо пропорционально увеличению концентрации соединений NQ, NQ1 и NQS.

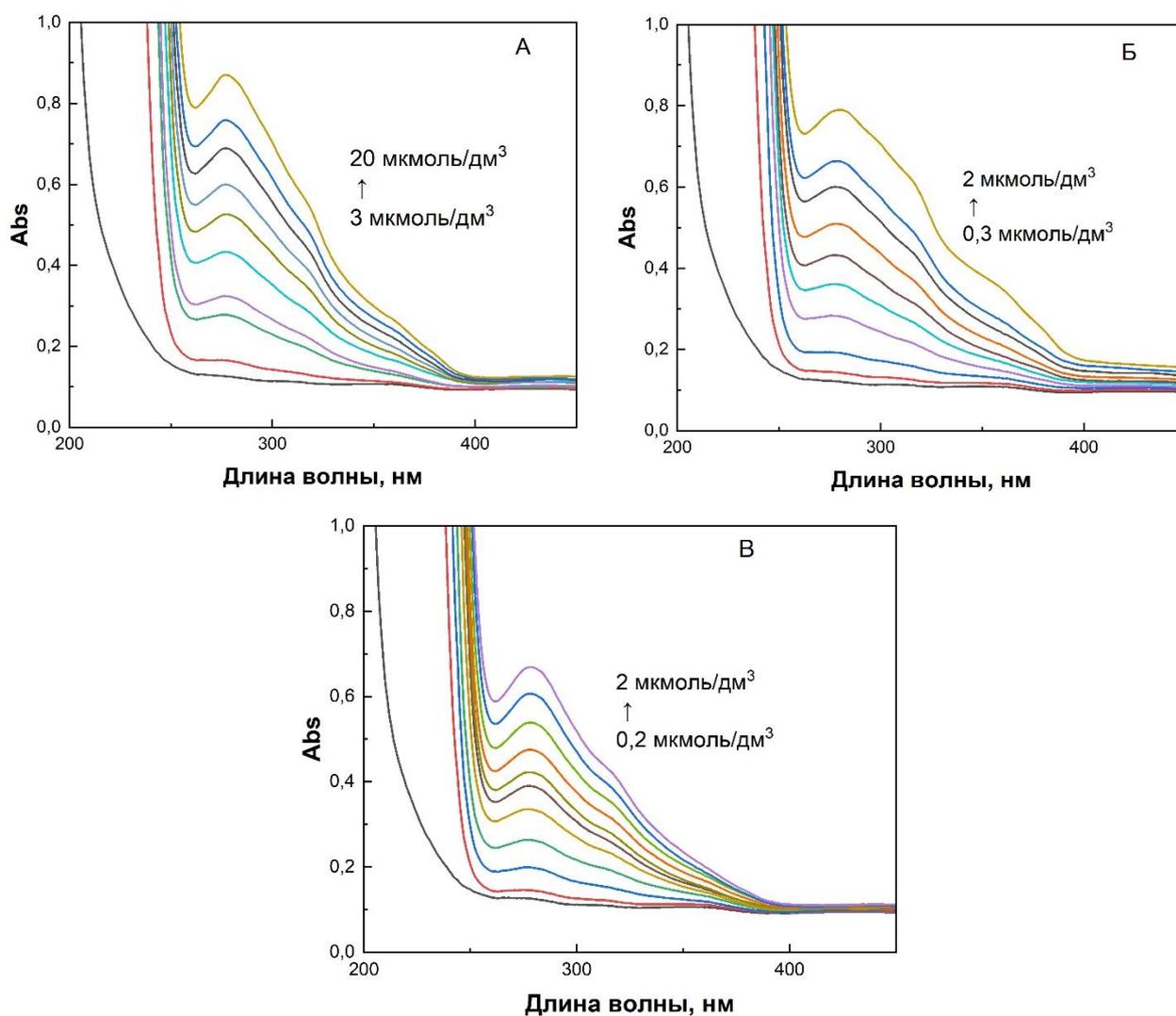


Рисунок 26 – Спектры поглощения А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS в этиловом спирте (pH=4) в зависимости от концентрации анализируемых соединений

На основе спектров поглощения были построены градуировочные зависимости значения аналитического сигнала от концентрации анализируемых соединений в растворе (рисунок 27). Графики носят линейный характер в заявленных диапазонах концентраций.

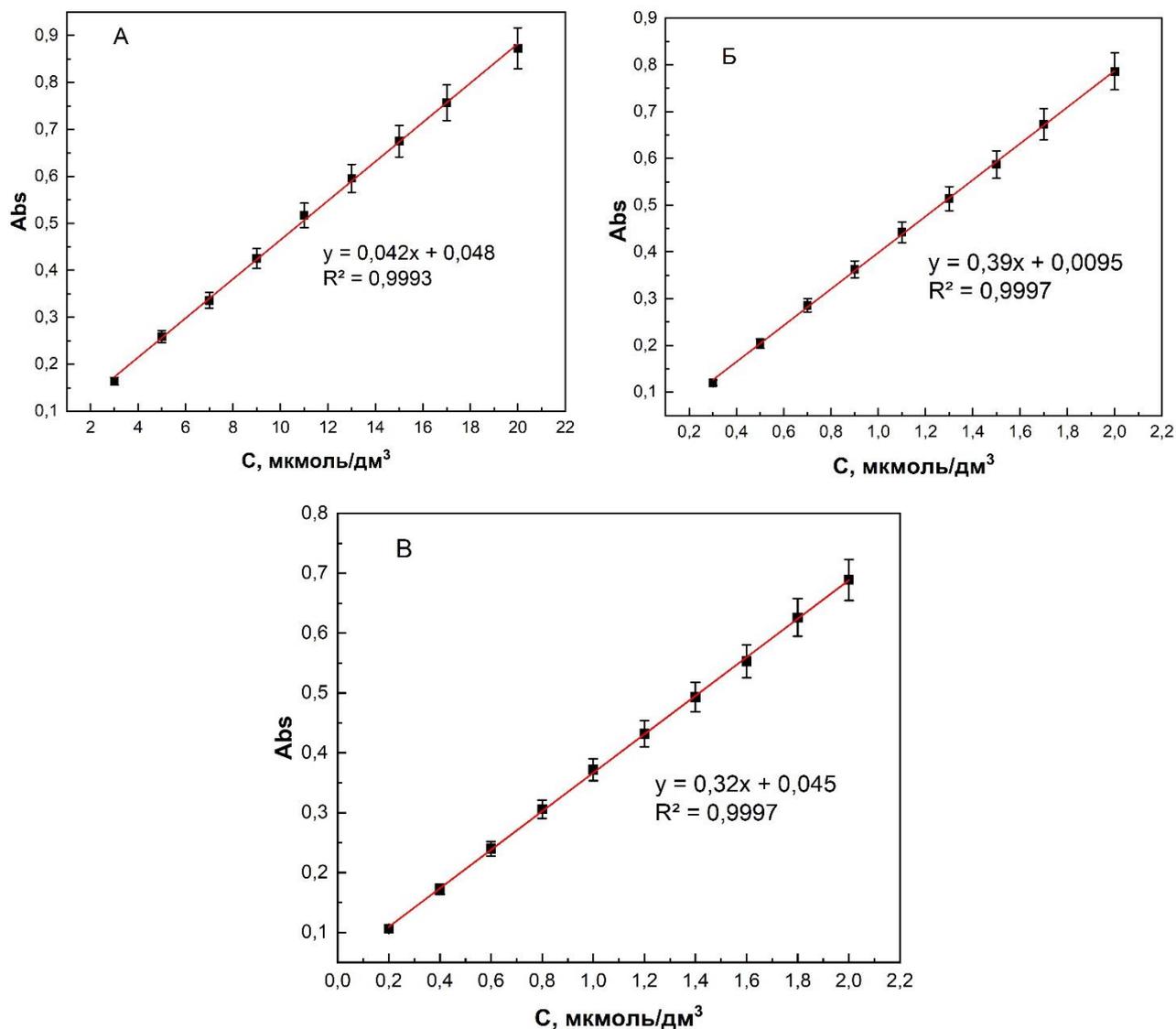


Рисунок 27 – Зависимость интенсивности оптической плотности от концентрации  
 А) NQ, Б) NQ1 и В) NQS в этиловом спирте (pH = 4)

Параметры градуировочных характеристик индивидуального определения NQ, NQ1 и NQS в модельных растворах представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Параметры градуировочных характеристик индивидуального определения NQ, NQ1 и NQS в модельных растворах (n=5; P=0,95)

Вещество	Длина волны, нм	Уравнение регрессии	Диапазон определяемых концентраций, мкмоль/дм <sup>3</sup>	Предел обнаружения, мкмоль/дм <sup>3</sup>
NQ	277	$y = 0,042x + 0,048$ $R^2 = 0,9993$	3–20	0,88
NQ1	280	$y = 0,39x + 0,0095$	0,3–2,0	0,094

		$R^2 = 0,9997$		
NQS	278	$y = 0,32x + 0,045$ $R^2 = 0,9997$	0,2–2,0	0,073

Таким образом, в данной главе показана возможность определения производных 1,4-нафтохинона методом спектрофотометрии.

## Глава 6. РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА В СУБСТАНЦИЯХ

### 6.1 Оценка гипотезы линейности градуировочных зависимостей для соединений NQ1 и NQS

Для эффективного применения градуировочных зависимостей аналитических сигналов от концентрации анализируемых соединений NQ1 и NQS в модельном растворе, полученных в разделах 4.5 и 5.4 методами вольтамперометрии и спектрофотометрии соответственно, необходимо провести проверку гипотезы линейности и адекватности регрессионного уравнения по критерию Фишера. Адекватность любой модели предполагает, что она корректно отражает исследуемый объект или процесс, обеспечивая надежность получаемых результатов. Критерии адекватности определяются через сравнительный анализ разброса данных. В частности, модель считается адекватной, если разброс между результатами параллельных измерений на каждом уровне концентрации  $I_i$  превышает расхождение между значениями, полученными в результате экспериментов, и значениями рассчитанными на основе модели  $I_i$  [164]. Данный аспект позволяет убедиться в том, что модель эффективно описывает поведение объекта или системы в заданных условиях эксперимента.

Для проведения оценки адекватности были построены таблицы зависимостей аналитических сигналов анализируемых соединений NQ1 и NQS от их концентрации для их вольтамперометрического и спектрофотометрического определения в модельных растворах.

#### *Метод вольтамперометрии*

##### *Вещество NQ1*

Таблица 9 – Зависимость аналитического сигнала соединения NQ1 от его концентрации в модельном растворе, определяемая методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 1–10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	$I_{1i}$ , мкА/В	$I_{2i}$ , мкА/В	$I_{3i}$ , мкА/В	$I_{cp}$ , мкА/В	$\Sigma(I_i - I_{cp})^2$
1	1	0,041	0,055	0,021	0,039	0,00058

2	2	0,121	0,074	0,099	0,098	0,00111
3	3	0,164	0,184	0,198	0,182	0,00058
4	4	0,298	0,259	0,271	0,276	0,00080
5	6	0,404	0,425	0,411	0,413	0,00023
6	8	0,597	0,575	0,568	0,58	0,00046
7	9	0,648	0,639	0,669	0,652	0,00047
8	10	0,814	0,628	0,709	0,717	0,01739
						Σ0,02162

Таблица 10 – Зависимость аналитического сигнала соединения NQ1 от его концентрации в модельном растворе, определяемая методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 10–100 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	I <sub>1i</sub> , мкА/В	I <sub>2i</sub> , мкА/В	I <sub>3i</sub> , мкА/В	I <sub>cp</sub> , мкА/В	Σ(I <sub>i</sub> - I <sub>cp</sub> ) <sup>2</sup>
1	10	0,814	0,628	0,709	0,717	0,01739
2	20	1,159	1,377	1,235	1,257	0,02449
3	40	2,451	2,402	2,395	2,416	0,00186
4	60	3,422	3,602	3,548	3,524	0,01706
5	80	4,819	4,709	4,686	4,738	0,01011
6	100	5,478	5,593	5,681	5,584	0,02073
						Σ0,09164

Таблица 11 – Зависимость аналитического сигнала соединения NQ1 от его концентрации в модельном растворе, определяемая методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 100–800 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	I <sub>1i</sub> , мкА/В	I <sub>2i</sub> , мкА/В	I <sub>3i</sub> , мкА/В	I <sub>cp</sub> , мкА/В	Σ(I <sub>i</sub> - I <sub>cp</sub> ) <sup>2</sup>
1	100	5,478	5,593	5,681	5,584	0,02073
2	200	9,635	9,806	9,731	9,724	0,01469
3	400	18,718	18,983	18,897	18,866	0,03655
4	600	27,612	27,871	27,749	27,744	0,03358
5	800	36,778	36,713	36,603	36,698	0,01565
						Σ0,1212

### *Вещество NQS*

Таблица 12 – Зависимость аналитического сигнала соединения NQS от его концентрации в модельном растворе, определяемая методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 0,5–1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	I <sub>1i</sub> , мкА/В	I <sub>2i</sub> , мкА/В	I <sub>3i</sub> , мкА/В	I <sub>cp</sub> , мкА/В	Σ(I <sub>i</sub> - I <sub>cp</sub> ) <sup>2</sup>
1	0,5	0,066	0,098	0,079	0,081	0,00052
2	0,6	0,095	0,085	0,129	0,103	0,00106

3	0,7	0,132	0,092	0,151	0,125	0,00181
4	0,8	0,149	0,179	0,107	0,145	0,00262
5	0,9	0,198	0,159	0,129	0,162	0,00239
6	1	0,191	0,237	0,127	0,185	0,00611
						Σ0,01451

Таблица 13 – Зависимость аналитического сигнала соединения NQS от его концентрации в модельном растворе, определяемая методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 1–10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	I <sub>1i</sub> , мкА/В	I <sub>2i</sub> , мкА/В	I <sub>3i</sub> , мкА/В	I <sub>ср</sub> , мкА/В	Σ(I <sub>i</sub> - I <sub>ср</sub> ) <sup>2</sup>
1	1	0,191	0,237	0,127	0,185	0,00611
2	2	0,352	0,299	0,243	0,298	0,00594
3	3	0,408	0,451	0,368	0,409	0,00345
4	4	0,459	0,526	0,506	0,497	0,00237
5	5	0,678	0,575	0,631	0,628	0,00532
6	7	0,819	0,915	0,861	0,865	0,00463
7	9	1,105	1,134	1,067	1,102	0,00226
8	10	1,192	1,299	1,226	1,239	0,00598
						Σ0,03606

На следующем этапе была проведена оценка дисперсии воспроизводимости с применением данных параллельных измерений для каждого независимого эксперимента, используя следующую формулу (7):

$$S_{\text{вос}}^2 = \frac{\Sigma(I_i - I_{\text{ср}})^2}{N(n-1)} \quad (7)$$

где N – количество экспериментальных точек, n – количество параллельных измерений.

Затем была проведена оценка дисперсии адекватности, отражающая, насколько экспериментальные значения I<sub>i</sub> отклоняются от значений, вычисленных при помощи уравнений регрессии. Эти расчеты представлены в таблицах, где I\* – значения токов, рассчитанные по регрессионным уравнениям.

#### *Вещество NQ1*

Таблица 14 – Оценка адекватности модели определения соединения NQ1 в модельном растворе методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 1–10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	I <sub>ср</sub> , мкА/В	I*, мкА/В	Σ(I* - I <sub>ср</sub> ) <sup>2</sup>
1	1	0,039	0,033	0,000036
2	2	0,098	0,11	0,000144
3	3	0,182	0,187	0,000025
4	4	0,276	0,264	0,000144
5	6	0,413	0,418	0,000025
6	8	0,58	0,572	0,000064
7	9	0,652	0,649	0,000009
8	10	0,717	0,726	0,000081
				Σ0,00053

Таблица 15 – Оценка адекватности модели определения соединения NQ1 в модельном растворе методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 10–100 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	I <sub>ср</sub> , мкА/В	I*, мкА/В	Σ(I* - I <sub>ср</sub> ) <sup>2</sup>
1	10	0,717	0,7407	0,0005617
2	20	1,257	1,2927	0,0012745
3	40	2,416	2,3967	0,0003725
4	60	3,524	3,5007	0,0005429
5	80	4,738	4,6047	0,0177689
6	100	5,584	5,7087	0,0155501
				Σ0,03607

Таблица 16 – Оценка адекватности модели определения соединения NQ1 в модельном растворе методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 100–800 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	I <sub>ср</sub> , мкА/В	I*, мкА/В	Σ(I* - I <sub>ср</sub> ) <sup>2</sup>
1	100	5,584	5,4424	0,0200506
2	200	9,724	9,9024	0,0318266
3	400	18,866	18,8224	0,0019012
4	600	27,744	27,7424	0,0000026
5	800	36,698	36,6624	0,0012674
				Σ0,05505

*Вещество NQS.*

Таблица 17 – Оценка адекватности модели определения соединения NQS в модельном растворе методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 0,5–1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	I <sub>ср</sub> , мкА/В	I*, мкА/В	Σ(I* - I <sub>ср</sub> ) <sup>2</sup>
---	---------------------------	-------------------------	-----------	---------------------------------------

1	0,5	0,081	0,08235	0,00000182
2	0,6	0,103	0,10284	0,000000253
3	0,7	0,125	0,12333	0,00000279
4	0,8	0,145	0,14382	0,00000139
5	0,9	0,162	0,16431	0,00000534
6	1	0,185	0,1848	0,00000004
				Σ 0,000011

Таблица 18 – Оценка адекватности модели определения соединения NQS в модельном растворе методом вольтамперометрии, в диапазоне концентраций 1–10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	С, мкмоль/дм <sup>3</sup>	I <sub>ср</sub> , мкА/В	I*, мкА/В	Σ(I* - I <sub>ср</sub> ) <sup>2</sup>
1	1	0,185	0,1719	0,0001716
2	2	0,298	0,2885	0,00009025
3	3	0,409	0,4051	0,00001521
4	4	0,497	0,5217	0,0006101
5	5	0,628	0,6383	0,0001061
6	7	0,865	0,8715	0,00004225
7	9	1,102	1,1047	0,00000729
8	10	1,239	1,2213	0,0003133
				Σ0,00135608

На следующем этапе была проведен расчёт дисперсии адекватности, согласно формуле (8):

$$S_{ад}^2 = \frac{n \Sigma(I^* - I_{ср})^2}{N - k} \quad (8)$$

где N – количество экспериментальных точек, n – количество параллельных измерений, k – количество независимых переменных.

Заключительным шагом в оценке адекватности модели стало вычисление по критерию Фишера, основанное на соотношении значений дисперсии адекватности и дисперсии воспроизводимости (формула 9).

$$F_{расч} = \frac{S_{ад}^2}{S_{вос}^2} \quad (9)$$

Было определено табличное значение критерия Фишера для установленного уровня значимости, а также для соответствующих степеней свободы дисперсии адекватности ( $f_1$ ) и дисперсии воспроизводимости ( $f_2$ ).

При сопоставлении вычисленных значений критерия Фишера с табличными, было установлено, что модели для определения анализируемых соединений NQ1 и NQS в модельном растворе методом вольтамперометрии являются адекватными ( $F_{\text{расч}} < F_{\text{табл}}$ ) в указанных диапазонах концентраций и могут быть описаны уравнениями регрессии приведенными в таблице 19.

Таблица 19 – Характеристики моделей для определения анализируемых соединений NQ1 и NQS в модельных растворах методом вольтамперометрии

Вещество	Уравнение регрессии	Диапазон концентраций, мкмоль/дм <sup>3</sup>	$S_{\text{вос}}^2$	$S_{\text{ад}}^2$	$F_{\text{расч}}$	$f_1$	$f_2$	$F_{\text{табл}}$
NQ1	$y = 0,077x - 0,044$ $R^2 = 0,9989$	1–10	0,00135	0,00023	0,167	7	16	2,66
	$y = 0,055x + 0,19$ $R^2 = 0,9981$	10–100	0,00764	0,02164	2,834	5	12	3,11
	$y = 0,045x + 0,98$ $R^2 = 0,9999$	100–800	0,01212	0,04129	3,406	4	10	3,48
NQS	$y = 0,21x - 0,021$ $R^2 = 0,9985$	0,5–1	0,00121	0,000006843	0,00566	5	12	3,11
	$y = 0,12x + 0,056$ $R^2 = 0,9987$	1–10	0,00225	0,0005812	0,258	7	14	2,77

В процессе проведения оценки адекватности моделей градуировочных зависимостей для определения соединений NQ1 и NQS было установлено, что все регрессионные модели в указанных диапазонах концентраций адекватно описывают процесс. На рисунке 28 представлены зависимости значения аналитического сигнала от концентрации анализируемых соединений полученные методом вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной в модельных растворах для разного диапазона концентраций.

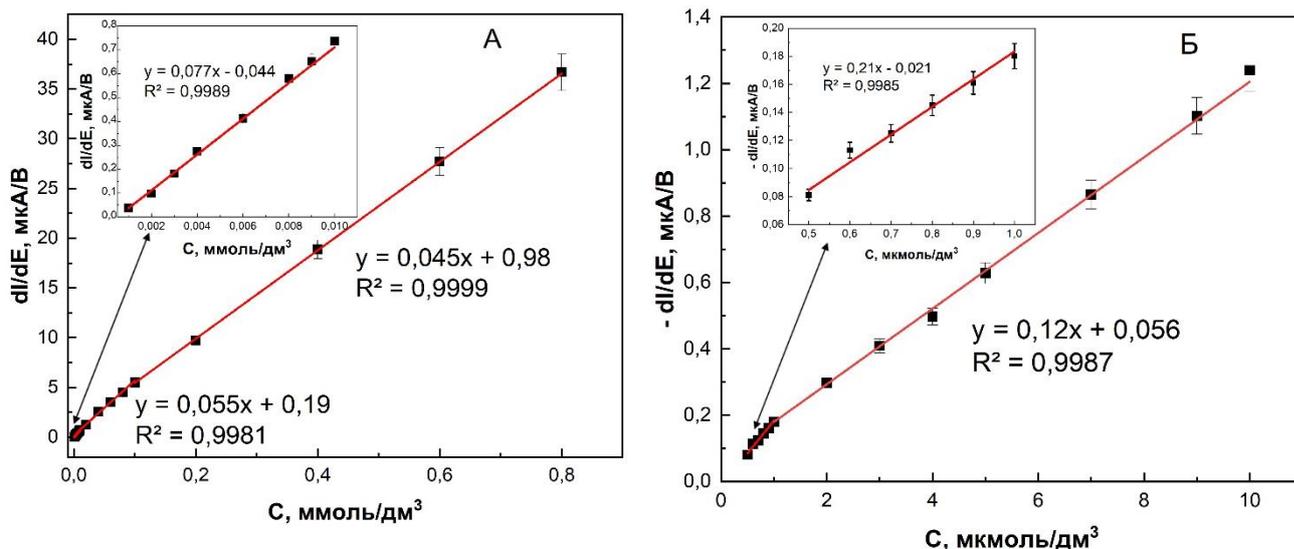


Рисунок 28 – Зависимость тока А) электроокисления NQ1 (рН 10,0), Б) электровосстановления NQS (рН 10,0) от концентрации в спиртовом растворе 0,1 моль/дм<sup>3</sup> NaClO<sub>4</sub> на ИМГЭ относительно ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup> KCl); скорость сканирования потенциала 100 мВ/с

Аналогично была проведена оценка адекватности моделей для определения анализируемых соединений NQ1 и NQS в модельных растворах методом спектрофотометрии.

### Метод спектрофотометрии

Таблица 20 – Зависимость аналитического сигнала соединения NQ1 от его концентрации в модельном растворе, определяемая методом спектрофотометрии, в диапазоне концентраций 0,3–2 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	С, мкмоль/дм <sup>3</sup>	Abs <sub>1i</sub>	Abs <sub>2i</sub>	Abs <sub>3i</sub>	Abs <sub>ср</sub>	Σ(Abs <sub>i</sub> - Abs <sub>ср</sub> ) <sup>2</sup>
1	0,3	0,122	0,101	0,137	0,120	0,00065
2	0,5	0,198	0,226	0,188	0,204	0,00078
3	0,7	0,281	0,268	0,309	0,286	0,00088
4	0,9	0,334	0,366	0,389	0,363	0,00153
5	1,1	0,423	0,466	0,437	0,442	0,00096
6	1,3	0,511	0,542	0,489	0,514	0,00142
7	1,5	0,569	0,576	0,616	0,587	0,00129
8	1,7	0,672	0,698	0,649	0,673	0,00120
9	2	0,789	0,804	0,765	0,786	0,00077
						Σ0,00948

Таблица 21 – Зависимость аналитического сигнала соединения NQS от его концентрации в модельном растворе, определяемая методом спектрофотометрии, в диапазоне концентраций 0,2–2 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	Abs <sub>1i</sub>	Abs <sub>2i</sub>	Abs <sub>3i</sub>	Abs <sub>ср</sub>	$\Sigma(\text{Abs}_i - \text{Abs}_{\text{ср}})^2$
1	0,2	0,133	0,084	0,101	0,106	0,001238
2	0,4	0,182	0,171	0,163	0,172	0,000182
3	0,6	0,252	0,243	0,225	0,24	0,000378
4	0,8	0,334	0,295	0,289	0,306	0,001194
5	1	0,358	0,388	0,37	0,372	0,000456
6	1,2	0,433	0,411	0,452	0,432	0,000842
7	1,4	0,51	0,499	0,47	0,493	0,000854
8	1,6	0,534	0,568	0,557	0,553	0,000602
9	1,8	0,611	0,615	0,652	0,626	0,001022
10	2	0,702	0,691	0,674	0,689	0,000398
						$\Sigma 0,007166$

Таблица 22 – Оценка адекватности модели определения соединения NQ1 в модельном растворе методом спектрофотометрии, в диапазоне концентраций 0,3–2 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	Abs <sub>ср</sub>	Abs*	$\Sigma(\text{Abs}^* - \text{Abs}_{\text{ср}})^2$
1	0,3	0,12	0,1262	0,00003844
2	0,5	0,204	0,204	0
3	0,7	0,286	0,2818	0,00001764
4	0,9	0,363	0,3596	0,00001156
5	1,1	0,442	0,4374	0,00002116
6	1,3	0,514	0,5152	0,00000144
7	1,5	0,587	0,593	0,000036
8	1,7	0,673	0,6708	0,00000484
9	2	0,786	0,7875	0,00000225
				$\Sigma 0,000133$

Таблица 23 – Оценка адекватности модели определения соединения NQS в модельном растворе методом спектрофотометрии, в диапазоне концентраций 0,2–2 мкмоль/дм<sup>3</sup>

№	C, мкмоль/дм <sup>3</sup>	Abs <sub>ср</sub>	Abs*	$\Sigma(\text{Abs}^* - \text{Abs}_{\text{ср}})^2$
1	0,2	0,106	0,1095	0,00001225
2	0,4	0,172	0,1738	0,00000324
3	0,6	0,24	0,2381	0,00000361
4	0,8	0,306	0,3024	0,00001296

5	1	0,372	0,3667	0,00002809
6	1,2	0,432	0,431	0,000001
7	1,4	0,493	0,4953	0,00000529
8	1,6	0,553	0,5596	0,00004356
9	1,8	0,626	0,6239	0,00000441
10	2	0,689	0,6882	0,00000064
				$\Sigma 0,000115$

Таблица 24 – Характеристики моделей для определения анализируемых соединений NQ1 и NQS в модельных растворах методом спектрофотометрии

Вещество	Уравнение регрессии	Диапазон концентраций, мкмоль/дм <sup>3</sup>	$S_{\text{вос}}^2$	$S_{\text{ад}}^2$	$F_{\text{расч}}$	$f_1$	$f_2$	$F_{\text{табл}}$
NQ1	$y = 0,389x + 0,0095$ $R^2 = 0,9997$	0,3–2,0	0,000526	0,00005	0,095	8	18	2,51
NQS	$y = 0,3215x + 0,0452$ $R^2 = 0,9997$	0,2–2,0	0,000358	0,000003835	0,107	9	20	2,40

При сопоставлении вычисленных значений критерия Фишера с табличными, было установлено, что модели для определения анализируемых соединений NQ1 и NQS в модельном растворе методом спектрофотометрии являются адекватными ( $F_{\text{расч}} < F_{\text{табл}}$ ) в указанных диапазонах концентраций и могут быть описаны уравнениями регрессии приведенными в таблице 24.

## 6.2 Исследование мешающего влияния сопутствующих компонентов матрицы на аналитические сигналы производных 1,4-нафтохинона

Анализируемые производные 1,4-нафтохинона (NQ1 и NQS) представляют собой перспективные лекарственные действующие вещества, обладающие значительным терапевтическим потенциалом и имеющие все шансы стать основой для разработки новых лекарственных препаратов. Так как наличие иных компонентов в системах лекарственных средств, может оказывать значительное влияние на результаты количественного анализа, то существует необходимость в изучении влияния мешающих компонентов. В связи с этим в данном разделе было проведено исследование влияния компонентов, наиболее часто встречающихся в составе препаратов на основе производных 1,4-нафтохинона.

Для оценки селективности разработанных аналитических методик определения соединений NQ1 и NQS были выбраны следующие компоненты: хлорид натрия, лактоза, глюкоза, ацетат натрия, и аскорбиновая кислота. Влияние потенциальных интерферирующих веществ оценивалось путем измерения аналитических сигналов соединений NQ1 и NQS при концентрациях 1 мкмоль/дм<sup>3</sup> и 5 мкмоль/дм<sup>3</sup> для спектрофотометрической и вольтамперометрической и методик соответственно. При этом концентрация потенциальных интерферентов была установлена в соотношении 100:1 к концентрациям соединения NQ1 и NQS. Результаты влияния потенциальных интерферирующих веществ на аналитический сигнал соединений NQ1 и NQS представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Влияние потенциальных интерферирующих веществ на аналитический сигнал соединений NQ1 и NQS (P=0,95, n=5)

Метод определения	Анализируемое соединение + Потенциально мешающий компонент	Отношение концентраций компонент: анализируемое соединение	Содержание анализируемого соединения мкмоль/дм <sup>3</sup>		t <sub>эксп</sub>		t <sub>табл</sub>
			NQ1	NQS	NQ1	NQS	
Вольтамперометрия	До введения компонентов	100:1	5,00±0,26	5,00±0,28	2,23	1,80	2,78
	Кальция хлорид		4,80±0,25	4,70±0,37	1,05	0,24	
	Глюкоза		4,70±0,29	4,80±0,28	1,31	1,27	
	Ацетат натрия		4,80±0,39	4,90±0,19	1,95	0,75	
	Аскорбиновая кислота		4,90±0,27	4,70±0,17	1,82	0,90	
Спектрофотометрия	До введения компонентов	100:1	1,00±0,15	1,00±0,19	0,70	0,76	2,78
	Кальция хлорид		0,80±0,18	0,70±0,22	0,87	0,96	
	Глюкоза		0,80±0,10	0,90±0,17	1,29	0,48	
	Ацетат натрия		0,90±0,12	0,70±0,15	0,58	1,18	
	Аскорбиновая кислота		0,70±0,13	0,70±0,20	1,23	0,54	

Экспериментальные данные, представленные в таблице 25, демонстрируют отсутствие статистически значимого воздействия 100-кратного избытка потенциальных мешающих компонентов на интенсивность сигналов NQ1 и NQS. Полученные результаты однозначно подтверждают высокую селективность

примененных аналитических подходов – вольтамперометрии и спектрофотометрии.

### **6.3. Разработка вольтамперометрической методики определения производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ в субстанции**

В рамках настоящего исследования была разработана вольтамперометрическая методика определения производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ. В качестве объектов анализа использовались чистые химические соединения данной группы, а именно NQ1 и NQS, которые рассматриваются как активные фармацевтические ингредиенты для последующего создания лекарственных форм.

Субстанции анализируемых соединений массой 0,15 г и 0,19 г, соответственно для веществ NQ1 и NQS были разработаны и предоставлены группой ученых Национального исследовательского Томского политехнического университета. Для подготовки растворов 0,15 г и 0,19 г соединений отбирают и растворяют в 5 см<sup>3</sup> ДМФА. Растворение проводят при комнатной температуре в течение 5 минут при постоянном перемешивании (300 об/мин). Растворы с меньшей концентрацией получали путем разбавления: аликвоту 0,1 см<sup>3</sup> исходного раствора переносили в мерную колбу и доводили до 10 см<sup>3</sup> ДМФА (добавляя 9,9 см<sup>3</sup>). Полученную смесь перемешивали 1 минуту при аналогичных условиях (300 об/мин, комнатная температура). Необходимый объем анализируемого раствора вносили в трехэлектродную электрохимическую ячейку. В качестве фонового электролита использовали этиловый спирт, подщелоченный 1 моль/дм<sup>3</sup> раствором гидроксида натрия до pH = 10.

Конфигурация трехэлектродной выностной ячейки включает в себя: индикаторный (рабочий) электрод – ИМГЭ, электрод сравнения и вспомогательный электрод – ХСЭ (1 моль/дм<sup>3</sup>). Электроды подключали к вольтамперометрическому анализатору TA-Lab и погружали в ячейку, содержащую 10 см<sup>3</sup> фонового электролита. Раствор деаэрировали барботированием газообразного азота в течение 10 минут для удаления растворенного кислорода.

Перед анализом проб проверяли чистоту фонового электролита. Для этого регистрировали вольтамперограммы методом линейной развертки потенциала в режиме первой производной для "холостого" раствора электролита. Процедуру повторяли минимум пять раз. Отсутствие посторонних пиков на вольтамперограммах подтверждало пригодность системы. После проверки фона в ячейку вносили требуемый объем анализируемого раствора с помощью микропипетки. Определение NQ1 и NQS проводили методом вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной при скорости развертки 100 мВ/с: NQ1 – диапазон потенциалов от  $-0,9$  В до  $-0,35$  В; NQS – диапазон потенциалов от  $-0,65$  В до  $-0,40$  В. Также условиями для определения анализируемых соединений являются значения потенциалов накопления  $-1$  В и  $-1,8$  В и время накопления 30 и 20 с для NQ1 и NQS, соответственно, в перемешиваемом растворе. Перемешивание в ячейке обеспечивалось барботажем газообразного азота. Все эксперименты проводились при комнатной температуре и атмосферном давлении. Качественную идентификацию NQ1 и NQS проводили по наличию пиков при потенциалах: NQ1:  $(-0,58 \pm 0,05)$  В; NQS:  $(-0,53 \pm 0,05)$  В. Количественное содержание определяли по градуировочному графику с последующим расчетом концентрации (рисунок 22). Общее время анализа по данной вольтамперометрической методике не превышало 30 минут.

#### **6.4 Разработка спектрофотометрической методики определения производных 1,4-нафтохинона в субстанции**

В рамках разработки спектрофотометрической методики для определения производных 1,4-нафтохинона, использовались те же анализируемые соединения, а именно NQ1 и NQS. Процесс растворения и подготовки анализируемых растворов, включая растворы с пониженными концентрациями, осуществлялся по аналогии с ранее разработанной вольтамперометрической методикой (пункт 5.3). Затем небольшое количество анализируемого соединения переносят в кювету с толщиной поглощающего слоя 1 см и разбавляют этиловым спиртом, предварительно подкисленным раствором 1 моль/дм<sup>3</sup> соляной кислоты до достижения pH = 4, также являющимся раствором сравнения.

Следующим шагом, перед проведением дальнейших измерений, является подтверждение чистоты раствора сравнения. Для этого записывают спектр поглощения раствора сравнения в диапазоне длин волн 200–800 нм с погрешностью  $\pm 0,1$  нм, данную операцию повторяют не менее пяти раз. О чистоте раствора сравнения судят по отсутствию максимумов поглощения на полученных спектрах, после чего вносят в кювету необходимый объем анализируемого соединения при помощи дозатора, и снимают спектры поглощения в диапазоне длин волн 200–800 нм с погрешностью  $\pm 0,1$  нм, с дальнейшей регистрацией длины волны максимума поглощения.

Все эксперименты проводятся в условиях комнатных температур и нормальном атмосферном давлении. Качественное содержание соединений NQ1 и NQS определяют по наличию максимумов поглощения при длине волны  $(280 \pm 2)$  нм с погрешностью  $\pm 0,1$  нм, а количественное согласно градуировочному графику с последующим расчетом концентрации (рисунок 27). Время, затрачиваемое на анализ с использованием спектрофотометрической методики, не превышает 30 минут.

### 6.5. Сравнительный анализ разработанных вольтамперометрической и спектрофотометрической методик определения производных 1,4-нафтохинона в субстанции

Оценка и сравнительный анализ показателя правильности вольтамперометрической и спектрофотометрической методик количественного определения анализируемых производных 1,4-нафтохинона NQ1 и NQS в субстанции проверялась методом "введено-найдено" (таблица 26).

Таблица 26 – Оценка правильности вольтамперометрической и спектрофотометрической методик ( $P=0,95$ ;  $n=5$ )

Анализируемое соединение	Вольтамперометрия				Спектрофотометрия			
	Введено (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	Найдено (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	тэксн	табл	Введено (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	Найдено (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	тэксн	табл
NQ1	–	–	–	2,78	0,50	0,61 $\pm$ 0,02	0,10	2,78
	1,00	0,97 $\pm$ 0,03	0,08		1,00	1,13 $\pm$ 0,02	0,11	
	10,00	10,20 $\pm$ 0,18	0,02		–	–	–	
NQS	0,50	0,59 $\pm$ 0,01	0,07		0,50	0,62 $\pm$ 0,01	0,10	
	1,00	1,05 $\pm$ 0,03	0,04		1,00	1,10 $\pm$ 0,02	0,09	
	10,00	10,50 $\pm$ 0,24	0,30		–	–	–	

Сравнительный анализ вольтамперометрической и спектрофотометрической методик, представленный в таблице 26, демонстрирует высокую степень согласованности полученных результатов. Дополнительно, проведенный статистический анализ с использованием критерия Стьюдента показал, что значения  $t$  не превышают табличные, что свидетельствует о достоверности и правильности разработанных методик.

Однако, вольтамперометрическая методика имеет более высокий показатель правильности и применима к более широкому диапазону концентраций. Она также отличается мобильностью, экспрессностью и низкой стоимостью. Эти преимущества делают вольтамперометрию более предпочтительным методом для определения анализируемых производных 1,4-нафтохинона. В то же время спектрофотометрическая методика может использоваться как альтернативный метод определения производных 1,4-нафтохинона благодаря своей селективности, которая проявляется в появлении новых полос поглощения для новых производных 1,4-нафтохинона.

#### **6.6 Метрологические характеристики вольтамперометрической методики определения производных 1,4-нафтохинона в субстанции**

Для оценки минимального определяемого количества производных 1,4-нафтохинона с установленной достоверностью в рамках разработанной вольтамперометрической методики были вычислены пределы обнаружения соединений NQ1 и NQS. Предел обнаружения ( $C_{min}$ ) отражает возможности методики в качественном анализе и соответствует минимальной концентрации, при которой аналитический сигнал  $y_{min}$  достоверно отличается от сигнала фона  $y_0$ . Расчёт предела обнаружения ( $C_{min}$ ) проводился по  $3s$ -критерию по формуле (10).

$$C_{min} = \frac{3s_a}{a} \quad (10)$$

где,  $s_a$  – стандартное отклонение фонового сигнала (свободного коэффициента);  $a$  – коэффициент чувствительности или угловой коэффициент градуировочного графика.

Расчеты показали, что предел обнаружения по разработанной методике составляет 0,08 нмоль/дм<sup>3</sup> для NQ1 и 0,86 нмоль/дм<sup>3</sup> для NQS.

Также для разработанной методики определения производных 1,4-нафтохинона в субстанции была проведена оценка следующих метрологических характеристик:

1. Показатель повторяемости – значение приписанной характеристики случайной погрешности результатов единичного анализа, полученных по методике в условиях повторяемости.

2. Показатель внутрилабораторной прецизионности – значение приписанной характеристики случайной погрешности результатов анализа, полученных по методике в условиях внутрилабораторной прецизионности.

3. Показатель точности – значение характеристики погрешности, установленное для любого результата анализа, полученного при соблюдении требований и правил данной методики при её реализации в конкретной лаборатории

4. Показатель правильности – значение систематической погрешности [165].

#### **6.6.1 Показатели качества вольтамперометрических методик определения соединений NQ1 и NQS в субстанции**

Процедура вычисления метрологических характеристик для вольтамперометрического определения соединений NQ1 и NQS в субстанции изложена в приложении А. Расчет данных метрологических характеристик выполнен в соответствии с РМГ-61-2010, регламентирующем государственную систему обеспечения единства измерений, и устанавливающим показатели точности, правильности и прецизионности методик количественного химического анализа.

Таблицы 27 и 28 содержат рассчитанные характеристики качества вольтамперометрических методик количественного определения соединений NQ1 и NQS в субстанции, соответственно для трех и двух градуировочных диапазонов концентраций.

Таблица 27 – Значение показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности при определении NQ1 в субстанции (P=0,95; n=2; L=15)

Уровень концентрации соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$	Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$	Показатель правильности, $\pm \Delta c$	Показатель точности, $\pm \Delta$
1	10,91	11,30	8,65	24,28
2	10,35	10,72	7,94	22,74
3	9,53	9,87	7,147	20,67
4	8,37	8,667	7,25	18,76
6	6,94	7,18	6,76	16,04
8	5,74	5,9	6,20	13,45
9	5,58	5,78	5,83	12,77
10	4,80	4,97	5,72	11,37
20	3,55	3,66	5,31	8,93
40	3,02	3,12	5,34	8,17
60	2,60	2,69	5,43	7,66
80	1,87	1,93	5,25	6,52
100	1,54	1,60	5,41	6,31
200	1,45	1,51	5,14	5,95
400	0,54	0,56	5,19	5,31
600	0,73	0,75	5,01	5,23
800	0,25	0,26	5,02	5,05

Таблица 28 – Значение показателей точности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности при определении соединения NQS в субстанции (P=0,95, n=2, L=15)

Уровень концентрации соединения NQS мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$	Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$	Показатель правильности, $\pm \Delta c$	Показатель точности, $\pm \Delta$
0,5	10,14	10,50	7,65	22,26
0,6	8,54	8,84	6,84	18,72
0,7	7,64	7,91	6,78	17,22
0,8	6,40	6,62	7,26	15,43
0,9	5,89	6,09	6,60	14,13
1	5,33	5,52	6,31	12,78
2	3,84	3,98	7,90	12,17

3	4,15	4,30	7,22	11,70
4	3,76	3,89	5,60	9,56
5	3,75	3,89	5,68	9,37
7	2,91	3,01	5,85	8,49
9	2,90	3,00	5,32	7,97
10	2,59	2,68	5,32	7,53

Данные таблиц 27 и 28 свидетельствуют о приемлемом качестве разработанных вольтамперметрических методик определения NQ1 и NQS в субстанции. Значения показателя точности во всех случаях не превышают 30 %, что подтверждает пригодность данных методик для количественного анализа указанных соединений.

Анализ зависимости показателя точности от концентрации (рисунок 29) выявил её нелинейный характер. Данная зависимость исследована для двух концентрационных диапазонов NQS и трех диапазонов NQ1.

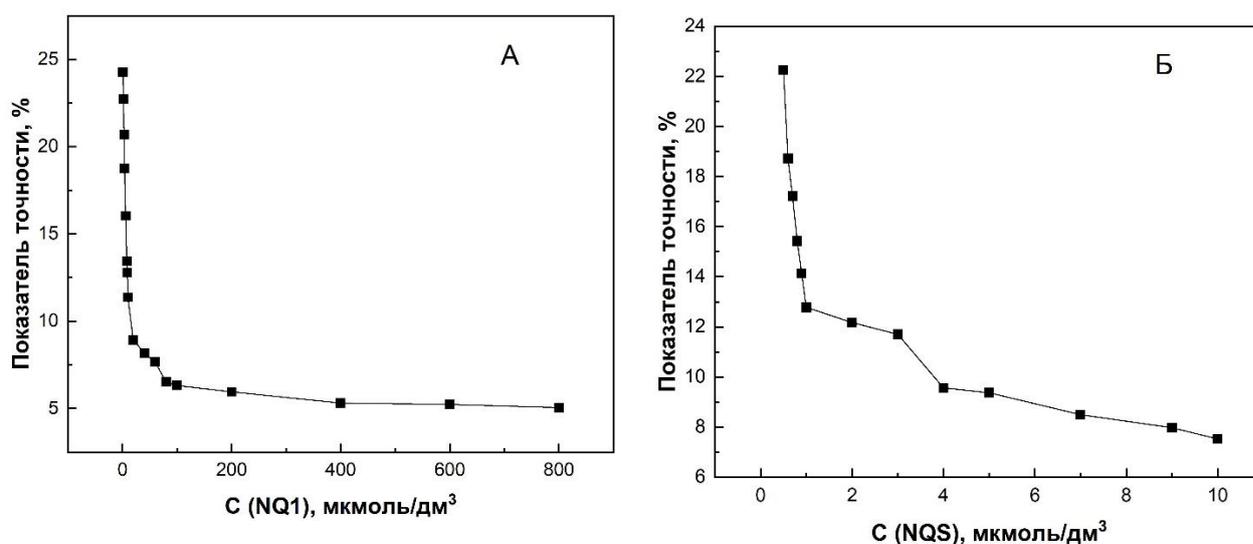


Рисунок 29 – Изменение показателя точности вольтамперметрических методик определения А) NQ1 и Б) NQS в субстанции в зависимости от концентрации соединений

Следовательно, учитывая полученные результаты, интервал оценки следует разделить на отдельные диапазоны. Для каждого диапазона в таблице 29 приведены количественные характеристики показателей качества методик.

Таблица 29 – Диапазон измерений, значения показателей точности, правильности, внутрилабораторной прецизионности и повторяемости ( $P=0,95$ ,  $n=2$ ,  $L=15$ )

Соединение	Диапазон измерений мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma$ (%)	Показатель внутрилабораторной прецизионности (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), $\sigma_R$ (%)	Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при вероятности $P=0,95$ ), $\pm \Delta_c$ (%)	Показатель точности (границы относительной погрешности при $P=0,95$ ), $\pm \Delta$ (%)
NQ1	от 1 до 10	11	12	9	25
	от 10 до 100	5	5	6	12
	от 100 до 800	2	2	6	7
NQS	от 0,5 до 1	11	11	8	23
	от 1 до 10	6	6	7	13

В данном разделе были определены и представлены основные метрологические характеристики разработанных методик количественного определения соединений NQ1 и NQS в субстанции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При проведении исследования морфологии поверхности ИМГЭ методами СЭМ и ЭИС, было получено ценное представление о структурных характеристиках используемого электродного материала. Также было вычислено значение электроактивной площади поверхности ИМГЭ, с помощью метода циклической вольтамперометрии, равное  $0,059 \text{ см}^2$ , что демонстрирует потенциал ИМГЭ для применения в электрохимических системах.

2. Было проведено исследование электрохимического поведения производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ методом циклической вольтамперометрии. Согласно полученным циклическим вольтамперограммам, анализируемые соединения NQ, NQ1 и NQS демонстрируют четко выраженные пики, соответствующие окислению и восстановлению различных функциональных групп. Причем, у соединений NQ, NQ1 и NQS выявлена общая пара пиков, связанных с процессами электроокисления и восстановления хиноидной группы, которые расположены в диапазоне потенциалов от  $-0,15 \text{ В}$  до  $0,65 \text{ В}$ . Эти пики характеризуют редокс-реакции, происходящие в данной функциональной группе, и их положение, а также величина, варьируются в зависимости от структуры молекул производных 1,4-нафтохинона. Замечено, что различия в положении пиков может объясняться влиянием электронных и пространственных эффектов, вызванных заместителями в молекуле 1,4-нафтохинонов. Эти эффекты могут изменять электронную плотность и, соответственно, реакционную способность хиноидной группы, что приводит к изменениям в характеристиках электрохимических сигналов. Кроме того, для соединений NQ1 и NQS была зафиксирована ещё одна пара пиков, обусловленная электроокислением и восстановлением иминогруппы, что указывает на участие этой функциональной группы в редокс-реакциях. Для NQ1 также наблюдается отдельный пик, связанный с процессом электроокисления гидроксильной группы.

3. В ходе исследования были установлены кинетические параметры электрохимических сигналов для соединений NQ, NQ1 и NQS. Эти параметры включают характеристики обратимости процессов, наличие явлений адсорбции на

электродной поверхности, а также расчет количества электронов, участвующих в редокс-реакциях. Кроме того, были предложены схемы окислительно-восстановительных процессов для NQ, которые соответствуют имеющимся литературным данным, что подтверждает их достоверность и повторяемость. Также были разработаны схемы для NQ1 и NQS, основанные на активности их иминогрупп. Полученные данные существенно обогащают понимание схем электрохимических процессов хиноновых систем, и открывают новые перспективы для разработки более эффективных электрохимических систем.

4. Проведено исследование влияния на электрохимический сигнал таких факторов, как pH фонового электролита, потенциал накопления и время проведения электролиза анализируемых соединений. А также подобраны рабочие значения данных факторов для разработки методики количественного определения производных 1,4-нафтохинона в субстанциях.

5. В результате применения метода ИК-спектроскопии была проведена проверка структуры анализируемых производных 1,4-нафтохинона. Анализ полученных ИК-спектров соединений в KBr, выявил основные функциональные группы и характерные им типы колебаний, что в свою очередь подтвердило идентичность соединений и их структурные особенности.

6. Исследование оптических свойств производных 1,4-нафтохинона методом спектрофотометрии позволило выявить несколько типов электронных переходов в анализируемых соединениях. Так, интенсивный  $\pi \rightarrow \pi^*$  переход, наблюдаемый в бензоле и нафтохиноне, проявляется в виде полосы поглощения в области 250–280 нм, а в области более длинных волн 330–350 нм наблюдается слабая полоса перехода  $n \rightarrow \pi^*$ . Также отмечено появление дополнительных пиков в спектрах поглощения веществ NQ1 и NQS между 470 и 500 нм. Изменение pH фонового раствора не оказывает влияния на длину волны максимумов поглощения анализируемых соединений при этом максимальное значение интенсивности наблюдается при pH = 4 для всех соединений.

7. Были разработаны вольтамперометрическая методика определения производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ, а также спектрофотометрическая

методика. В модельных растворах линейный диапазон определения соединений NQ1 и NQS методом вольтамперометрии с линейной разверткой потенциала в режиме первой производной составил от 1 до 800 и от 0,5 до 10 мкмоль/дм<sup>3</sup> с пределами обнаружения 0,8 и 0,086 мкмоль/дм<sup>3</sup> для NQ1 и NQS, соответственно. При этом условиями для определения анализируемых соединений являются значения потенциалов накопления –1 В и –1,8 В, времени накопления 30 и 20 с и рН фонового электролита равным 10. Также согласно разработанной спектрофотометрической методике в модельных растворах линейный диапазон определения соединений NQ1 и NQS составил от 0,3 до 2 мкмоль/дм<sup>3</sup> и от 0,2 до 2 мкмоль/дм<sup>3</sup> с пределами обнаружения 0,094 и 0,073 мкмоль/дм<sup>3</sup> для NQ1 и NQS, соответственно, при этом условиями для определения анализируемых соединений является рН фонового электролита равного 4.

8. Проведен сравнительный анализ разработанных вольтамперометрической и спектрофотометрической методик. Согласно его результатам, полученные с помощью двух методик результаты соотносятся друг с другом. Однако вольтамперометрическая методика имеет более высокий показатель правильности, а также применима к более широкому диапазону концентраций. Вследствие этого, разработанная вольтамперометрическая методика была выбрана как более предпочтительный метод определения производных 1,4-нафтохинона на ИМГЭ в субстанции.

9. Полученные соединения были исследованы на цитотоксическую активность на таких клеточных линиях как РС-3 (аденокарцинома предстательной железы), SKOV-3 (рак яичников), MCF-7 (рак молочной железы) и Jurkat. При этом соединения NQ1 и NQS продемонстрировали значимые антипролиферативные эффекты в отношении протестированных линий опухолевых клеток. Наблюдаемая цитотоксичность сопровождалась критическим повышением параметров внутриклеточного окислительного стресса и увеличением маркеров апоптоза, что в свою очередь характеризует данные соединения как перспективные лекарственные субстанции. Важно отметить, что соединение NQS проявило выраженную антиоксидантную активность как к активным формам кислорода ( $O_2^{\cdot-}$

и  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), так и к гидроксильным радикалам, что добавляет дополнительную ценность к его свойствам. Результаты, полученные в ходе проведения данного исследования, свидетельствуют о том, что анализируемые соединения имеют потенциал стать новыми перспективными лекарственными субстанциями для лечения различных типов рака, подтверждая необходимость дальнейших клинических исследований для оценки их эффективности и безопасности.

## ВЫВОДЫ

1. Исследование электрохимических свойств производных 1,4-нафтохинона, выявило наличие четких редокс-пигов, связанных с окислительно-восстановительными процессами хиноидной группы. Для NQ1 и NQS были обнаружены дополнительные пики, обусловленные иминогруппами, а у NQ1 также был выделен пик, соответствующий гидроксильной группе. При исследовании оптических свойств были отмечены интенсивные электронные переходы в диапазоне 250–280 нм, а для NQ1 и NQS наблюдаются дополнительные пики поглощения между 470 и 500 нм.
2. В результате исследования морфологии поверхности ИМГЭ с использованием методов СЭМ и ЭИС были выявлены важные структурные характеристики электродного материала, а также определена электроактивная площадь поверхности, составившая 0,059 см<sup>2</sup>.
3. В ходе исследования физико-химических закономерностей процессов процесса окисления-восстановления производных 1,4-нафтохинона были получены важные результаты, касающиеся кинетических параметров электрохимических сигналов для соединений NQ, NQ1 и NQS. Эти параметры включают характеристики обратимости процессов, наличие явлений адсорбции на электродной поверхности, а также расчет количества электронов, участвующих в редокс-реакциях. Расчет числа электронов, участвующих в реакциях, позволил более точно охарактеризовать схемы окислительно-восстановительных процессов, особенно для NQ, чьи схемы соответствуют существующим литературным данным. Для соединений NQ1 и NQS были предложены новые схемы, основанные на активности иминогрупп.
4. В результате проведенного исследования были определены рабочие параметры для количественного определения производных 1,4-нафтохинона, включая рН фонового электролита, время и потенциал проведения электролиза.

5. В результате проведенной работы были разработаны две методики для количественного определения производных 1,4-нафтохинона: вольтамперометрическая и спектрофотометрическая. Вольтамперометрическая методика показала линейные диапазоны от 1 до 800 мкмоль/дм<sup>3</sup> для NQ1 и от 0,5 до 10 мкмоль/дм<sup>3</sup> для NQS, с пределами обнаружения 0,8 и 0,086 мкмоль/дм<sup>3</sup>, соответственно. Рабочие условия для этой методики включают потенциалы накопления –1 В и –1,8 В, время накопления 30 и 20 секунд, а также pH фонового электролита равным 10. Спектрофотометрическая методика продемонстрировала линейные диапазоны от 0,3 до 2 мкмоль/дм<sup>3</sup> для NQ1 и от 0,2 до 2 мкмоль/дм<sup>3</sup> для NQS, с пределами обнаружения 0,094 и 0,073 мкмоль/дм<sup>3</sup>, соответственно. Рабочие условия для спектрофотометрического анализа включают pH фонового электролита равным 4.
6. В ходе исследования цитотоксической активности соединений NQ1 и NQS на клеточных линиях PC-3, SKOV-3, MCF-7 и Jurkat было установлено, что оба соединения демонстрируют значительные антипролиферативные эффекты. Эти эффекты сопровождаются повышением внутриклеточного окислительного стресса и увеличением маркеров апоптоза, что указывает на их потенциал как перспективных лекарственных субстанций. Особое внимание заслуживает соединение NQS, которое проявило выраженную антиоксидантную активность к активным формам кислорода и гидроксильным радикалам. Результаты исследования подчеркивают необходимость дальнейших клинических исследований для оценки эффективности и безопасности данных соединений в терапии различных типов рака.

**СПИСОК ОБОЗНАЧЕНИЙ И СОКРАЩЕНИЙ**

1,2- НХ – 1,2- нафтохинон;

1,4-НХ – 1,4-нафтохинон;

ЗМКП – 3-меркаптопропионовая кислота;

Аβ – β-амилоид;

β-ЦД – β-циклодекстрин;

АдсДПВ – дифференциальная импульсно-адсорбционная инверсионная вольтамперометрия;

АЛТ – аланинтрансаминаза;

АСМ – атомно-силовая микроскопия;

АСТ – аспаратаминотрансфераза;

АУР – рецептор арилуглеводородов;

АХ – 1,4-антрахинон;

АХЭ – ацетил холинэстераза;

БХ – п-бензохинон;

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения;

ВЭЖХ-ЭСИ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография, ионизацией с электрораспылением и тандемной масс-спектрометрией;

ВЭТСХ – высокоэффективная тонкослойная хроматография;

ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза;

ГИФ-1α – гипоксия-индуцируемый фактор -1α;

ГЛ – графеновый лист;

ДМФА – диметилформамид;

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;

ДИВ – дифференциальная импульсная вольтамперометрия;

ДЭС – двойной электрический слой;

ИЛ-1β – интерлейкин;

ИМГЭ – импрегнированный дисковый графитовый электрод;

ЛДГ – лактатдегидрогеназа;

ЛОГ – липоксигеназа;

- МАО – моноаминоксидаза;
- МБХ – метил-п-бензохинон;
- МИК – минимальная ингибирующая концентрация;
- МУНТ – многослойные углеродные нанотрубки;
- НКЭ – насыщенный каломельный электрод;
- ОНФ- $\alpha$  – опухолевый некротический фактор альфа;
- ПГНФ – полигидрокси-1,4-нафтохинон;
- ПДДА – поли(диаллилдиметиламмонийхлорид);
- ПСС – поли(4-стиролсульфонат);
- ПЭДОТ – поли(3,4-этилендиокситиофен);
- ПЭДОТ-МеОН – поли(гидроксиметил-3,4-этилендиокситиофен);
- ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания;
- СУЭ – стеклоуглеродный электрод;
- СЭМ – сканирующая электронная микроскопия;
- ТФЕБ – транскрипционный фактор ЕБ;
- ТФР  $\beta 1$  – трансформирующий фактор роста  $\beta 1$ ;
- УВЭЖХ – ультравысокоэффективная жидкостная хроматография;
- УНТ-СООН – карбоксилированные одностенные углеродные нанотрубки;
- УПЭ – углероднопастовый электрод;
- ФБР – фосфатный буферный раствор;
- ФХР – франезоидный X-рецептор;
- ХСЭ – хлоридсеребряный электрод;
- ЦВА – циклическая вольтамперометрия;
- ЦОГ-2 – циклооксигеназа-2;
- ЩФ – щелочная фосфатаза;
- ЭИС – электрохимическая импедансная спектроскопия;
- ЯРФ-2 – ядерный родственный фактор-2.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. World Health Organization [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer/> (дата обращения: 12.01.2025).
2. S. Jaworski, E. Leniewska, and M. K. Kalinowski. Solvent effect on the redox potential of quinone-semiquinone systems // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 1979. Т. 105, №. 2. С. 329–334.
3. Kutyrav A. A., Moskva V. V. Nucleophilic reactions of quinones // *Russian Chemical Reviews*. 1991. Т. 60, №. 1. С. 72.
4. Finley K. T. The addition and substitution chemistry of quinones // *Quinonoid Compounds*. 1974. Т. 2, №. 2. С. 877-1144.
5. Guo X., Mayr H. Quantification of the ambident electrophilicities of halogen-substituted quinones // *Journal of the American Chemical Society*. 2014. Т. 136, №. 32. С. 11499-11512.
6. Crane F. L. Hatefi Y, Lester RL, Widmer C. Isolation of a quinone from beef heart mitochondria. // *Biochim Biophys Acta*. 1957. Т. 25. С. 220-221.
7. Wu Y, Zeng R, Nan J, Shu D, Qiu Y, Chou S. Quinone electrode materials for rechargeable lithium/sodium ion batteries. // *Adv Energy Mater*. 2017. Т. 7, №. 24. С. 1700278.
8. Yin W, Grimaud A, Azcarate I, Yang C, Tarascon JM Electrochemical reduction of CO<sub>2</sub> mediated by quinone derivatives: implication for Li-CO<sub>2</sub> battery. // *J Phys Chem*. 2018, Т. 122, №. 12 С.6546–6554
9. Milton RD, Hickey DP, Abdellaoui S, Lim K, Wu F, Tan B, Minteer SD. Rational design of quinones for high power density biofuel cells. // *Chem Sci*. 2015. №. 6. С. 4867–4875.
10. Ferreira D. С. М. и др. Ex vivo Activities of  $\beta$ -Lapachone and  $\alpha$ -Lapachone on Macrophages: A Quantitative Pharmacological Analysis Based on Amperometric Monitoring of Oxidative Bursts by Single Cells // *ChemBioChem*. 2009. Т. 10, №. 3. С. 528-538.

11. E. Laviron. Electrochemical reactions with protonations at equilibrium. Part XIII. Experimental study of the homogeneous electron exchange in quinone/dihydroquinone systems. // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 1986. Т. 208, №. 2, С. 357–372.
12. Dulo B. и др. Natural quinone dyes: a review on structure, extraction techniques, analysis and application potential // *Waste and Biomass Valorization*. 2021. Т. 12, №. 12. С. 6339-6374.
13. Mansour R., Yusuf M. Natural dyes and pigments: Extraction and applications // *Handbook of renewable materials for coloration and finishing*. 2018. Т. 9. С. 75-102.
14. Wolkenstein K. и др. Preservation of hypericin and related polycyclic quinone pigments in fossil crinoids // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2006. Т. 273, №. 1585. С. 451-456.
15. Lichtenthaler H. K., Calvin M. Quinone and pigment composition of chloroplasts and quantasome aggregates from *Spinacia oleracea* // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Specialized Section on Biophysical Subjects*. 1964. Т. 79, №. 1. С. 30-40.
16. Aminin D., Polonik S. 1, 4-Naphthoquinones: some biological properties and application // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2020. Т. 68, №. 1. С. 46-57.
17. Saxena S. и др. Structural Changes Induced by Quinones: High-Resolution Microwave Study of 1, 4-Naphthoquinone // *ChemPhysChem*. 2020. Т. 21, №. 23. – С. 2579-2584.
18. Yildirim H. Synthesis and Structural Analysis of Some New Sulfanyl Amino 1, 4-Naphthoquinone Derivatives // *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*. 2017. Т. 5, №. 1. С. 149-158.
19. Babula P. и др. Noteworthy secondary metabolites naphthoquinones-their occurrence, pharmacological properties and analysis // *Current Pharmaceutical Analysis*. 2009. Т. 5, №. 1. С. 47-68.
20. Shearer M. J., Newman P. Metabolism and cell biology of vitamin K // *Thrombosis and haemostasis*. 2008. Т. 100, №. 10. С. 530-547.

21. Henry T. R., Wallace K. B. Differential mechanisms of cell killing by redox cycling and arylating quinones // Archives of toxicology. 1996. T. 70. C. 482-489.
22. Nutter L. M. и др. Menadione: spectrum of anticancer activity and effects on nucleotide metabolism in human neoplastic cell lines // Biochemical pharmacology. 1991. T. 41, №. 9. C. 1283-1292.
23. Andújar I. и др. Pharmacological properties of shikonin—a review of literature since 2002 // Planta medica. 2013. T. 79, №. 18. C. 1685-1697.
24. Acharya B. R., Bhattacharyya B., Chakrabarti G. The natural naphthoquinone plumbagin exhibits antiproliferative activity and disrupts the microtubule network through tubulin binding // Biochemistry. 2008. T. 47, №. 30. C. 7838-7845.
25. Mahkam M., Nabati M., Rahbar Kafshboran H. Isolation, identification and characterization of lawsone from henna leaves powder with soxhlet technique // Quarterly Journal of Iranian Chemical Communication. 2014. T. 2, №. 1, C. 1-81, №. 2. – C. 34-38.
26. Kirkland D., Marzin D. An assessment of the genotoxicity of 2-hydroxy-1, 4-naphthoquinone, the natural dye ingredient of Henna // Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 2003. T. 537, №. 2. C. 183-199.
27. Sen S., Borthakur M. S., Chetia D. Lawsonia inermis Linn: A breakthrough in cosmeceuticals // Sciences of Phytochemistry. 2023. T. 2, №. 1. C. 128-158.
28. Strugstad M., Despotovski S. A summary of extraction, synthesis, properties, and potential uses of juglone: A literature review // Journal of Ecosystems and Management. 2012. T. 13, №. 3. C. 1-16.
29. Luan F. и др. Juglans mandshurica Maxim.: A review of its traditional usages, phytochemical constituents, and pharmacological properties // Frontiers in Pharmacology. 2021. T. 11. C. 569800.
30. Wang J. и др. Antibacterial activity of juglone against Staphylococcus aureus: from apparent to proteomic // International journal of molecular sciences. 2016. T. 17, №. 6. C. 965.
31. Islam A. K. M. M., Widhalm J. R. Agricultural uses of juglone: Opportunities and challenges // Agronomy. 2020. T. 10, №. 10. C. 1500.

32. Chen S., Wu X., Yu Z. Juglone suppresses inflammation and oxidative stress in colitis mice // *Frontiers in Immunology*. 2021. Т. 12. С. 674341.
33. Alizadeh Nobakht N. A. и др. Juglone Mediates Inflammatory Bowel Disease Through Inhibition of TLR-4/NF KappaB Pathway in Acetic Acid-induced Colitis in Rats // *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents)*. 2023. Т. 22, №. 2. С. 92-103.
34. Landa P. и др. Redox and non-redox mechanism of in vitro cyclooxygenase inhibition by natural quinones // *Planta medica*. 2012. Т. 78, №. 04. С. 326-333.
35. Hegazi N. M. и др. Characterization of phenolic compounds from *Eugenia supra-axillaris* leaf extract using HPLC-PDA-MS/MS and its antioxidant, anti-inflammatory, antipyretic and pain killing activities in vivo // *Scientific Reports*. 2019. Т. 9, №. 1. С. 11122.
36. Hosseinzadeh H., Zarei H., Taghiabadi E. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Juglans regia* L. leaves in mice // *Iranian red crescent medical journal*. 2011. Т. 13, №. 1. С. 27.
37. Park G., Oh M. S. Inhibitory effects of *Juglans mandshurica* leaf on allergic dermatitis-like skin lesions-induced by 2, 4-dinitrochlorobenzene in mice // *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2014. Т. 66, №. 2-3. С. 97-101.
38. Ahmad T., Suzuki Y. J. Juglone in oxidative stress and cell signaling // *Antioxidants*. 2019. Т. 8, №. 4. С. 91.
39. Hussain H. и др. Lapachol: an overview // *Arkivoc*. 2007. Т. 2, №. 1. С. 145-171.
40. Guiraud P. и др. Comparison of antibacterial and antifungal activities of lapachol and  $\beta$ -lapachone // *Planta Medica*. 1994. Т. 60. №. 04. С. 373-374.
41. Lira A. A. M. и др. Development of lapachol topical formulation: anti-inflammatory study of a selected formulation // *AAPS PharmSciTech*. 2008. Т. 9. С. 163-168.
42. Pajoudoro D. N. и др. Investigation of the influence of Z/E configuration on the antioxidant and antiradical activities of lapachol and its derivatives: DFT assessment // *Structural Chemistry*. 2023. Т. 34, №. 3. С. 979-993.

43. Sankawa U. и др. Antitumor activity of shikonin and its derivatives // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1977. Т. 25, №. 9. С. 2392-2395.
44. Fujita Y. и др. Production of shikonin derivatives by cell suspension cultures of *Lithospermum erythrorhizon*: II. A new medium for the production of shikonin derivatives // *Plant Cell Reports*. 1981. Т. 1. С. 61-63.
45. Andújar I. и др. Pharmacological properties of shikonin—a review of literature since 2002 // *Planta medica*. 2013. Т. 79, №. 18. С. 1685-1697.
46. Chen X. и др. Cellular pharmacology studies of shikonin derivatives // *Phytotherapy Research*. 2002. Т. 16, №. 3. С. 199-209.
47. World Health Organization [Электронный ресурс]. URL: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (дата обращения: 12.01.2025).
48. Li D. M. и др. Extraction, structural characterization and antioxidant activity of polyhydroxylated 1, 4-naphthoquinone pigments from spines of sea urchin *Glyptocidaris crenularis* and *Strongylocentrotus intermedius* // *European food research and technology*. 2013. Т. 237. С. 331-339.
49. Ertik O. и др. Synthesis, Molecular Docking, Some Metabolic Enzyme Inhibition Properties, and Antioxidant Activity Studies of 1, 4-Naphthoquinones // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2024. Т. 50, №. 3. С. 1001-1015.
50. Zhou D. Y. и др. Extraction and antioxidant property of polyhydroxylated naphthoquinone pigments from spines of purple sea urchin *Strongylocentrotus nudus* // *Food Chemistry*. 2011. Т. 129, №. 4. С. 1591-1597.
51. Ageenko N. V., Kiselev K. V., Odintsova N. A. Quinoid pigments of Sea Urchins *Scaphechinus Mirabilis* and *strongylocentrotus intermedius*: biological activity and potential applications // *Marine Drugs*. 2022. Т. 20, №. 10. С. 611.
52. Morelli M. B. и др. Vitamin C and cardiovascular disease: an update // *Antioxidants*. 2020. Т. 9, №. 12. С. 1227.
53. Bellinge J. W. и др. Vitamin K Intake and atherosclerotic cardiovascular disease in the danish diet cancer and health study // *Journal of the American Heart Association*. 2021. Т. 10, №. 16. С. 020551.

54. Lebedev A. V. и др. Antioxidant properties, autooxidation, and mutagenic activity of echinochrome a compared with its etherified derivative // *Biochemistry, Moscow*. 2001. Т. 66, №. 8. С. 885-893.
55. Попов А. М. и др. A study of the antioxidant and membranotropic activities of equinochrome a using different model systems // *Biophysics*. 2017. Т. 62. С. 407-414.
56. Mishchenko N. P., Fedoreev S. A., Bagirova V. L. Histochochrome: A new original domestic drug // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2003. Т. 37, №. 1. С. 48-52.
57. Park J. H. и др. Therapeutic cell protective role of histochochrome under oxidative stress in human cardiac progenitor cells // *Marine drugs*. 2019. Т. 17, №. 6. С. 368.
58. Babenkova I. V. и др. Antioxidative activity of histochochrome and some other drugs used in ophthalmology // *Vestnik oftalmologii*. 1999. Т. 115, №. 4. С. 22-24.
59. Napalkova S. M., Buyuclinskaya O. V. Effect of 1, 4-naphthoquinone alkylated amino acids derivatives on cardiohemodynamics on ischemic myocardium model. 2021. Т. 25, №. 4. С. 66-71.
60. Napalkova S. M., Buyuklinskaya O. V. The antiarrhythmic activity of amino acid-containing derivatives of 1, 4-naphthoquinone // *Pharmacy Formulas*. 2023. Т. 5, №. 4. С. 10-15.
61. Mohamed A. S. и др. Hepatoprotective effect of echinochrome pigment in septic rats // *Journal of Surgical Research*. 2019. Т. 234. С. 317-324.
62. Kim H. K. и др. Multifaceted clinical effects of echinochrome // *Marine Drugs*. 2021. Т. 19, №. 8. С. 412
63. Pan P. H. и др. Plumbagin ameliorates bile duct ligation-induced cholestatic liver injury in rats // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022. Т. 151. С. 113-133.
64. Ma Q., Wei R., Sang Z. Structural characterization and hepatoprotective activity of naphthoquinone from *Cucumis bisexualis* // *Natural Product Communications*. 2020. Т. 15, №. 1. С. 1934578X20902898.
65. Kozlovskiy S. A. и др. Anti-Inflammatory Activity of 1, 4-Naphthoquinones Blocking P2X7 Purinergic Receptors in RAW 264.7 Macrophage Cells // *Toxins*. 2023. Т. 15, №. 1. С. 47.

66. Bawazeer S., Rauf A. In vivo anti-inflammatory, analgesic, and sedative studies of the extract and naphthoquinone isolated from *Diospyros kaki* (persimmon) // *ACS omega*. 2021. Т. 6, №. 14. С. 9852-9856.
67. Hou Y. и др. In vitro antioxidant and antimicrobial activities, and in vivo anti-inflammatory activity of crude and fractionated PHNQs from sea urchin (*Evechinus chloroticus*) // *Food Chemistry*. 2020. Т. 316. С. 126339.
68. Sheeja E., Joshi S. B., Jain D. C. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory and antinociceptive compound from *Plumbago zeylanica* leaf // *Pharmaceutical biology*. 2010. Т. 48, №. 4. С. 381-387.
69. Ravichandiran P. и др. Synthesis and antimicrobial evaluation of 1, 4-naphthoquinone derivatives as potential antibacterial agents // *ChemistryOpen*. 2019. Т. 8, №. 5. С. 589-600.
70. Liu Z. и др. Evaluation of 1, 4-naphthoquinone derivatives as antibacterial agents: activity and mechanistic studies // *Frontiers of Environmental Science & Engineering*. 2023. Т. 17, №. 3. С. 31.
71. Sánchez-Calvo J. M. и др. Synthesis, antibacterial and antifungal activities of naphthoquinone derivatives: A structure–activity relationship study // *Medicinal Chemistry Research*. 2016. Т. 25. С. 1274-1285.
72. Ekennia A. C. и др. Synthesis, characterization, molecular docking, biological activity and density functional theory studies of novel 1, 4-naphthoquinone derivatives and Pd (II), Ni (II) and Co (II) complexes // *Applied Organometallic Chemistry*. 2018. Т. 32, №. 5. С. e4310.
73. Sharma M. C. A Structure–Activity Relationship Study of Naphthoquinone Derivatives as Antitubercular Agents Using Molecular Modeling Techniques // *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*. 2015. Т. 7. С. 346-356.
74. Halicki P. C. B. и др. Naphthoquinone derivatives as scaffold to develop new drugs for tuberculosis treatment // *Frontiers in Microbiology*. 2018. Т. 9. С. 673.
75. Mahapatra A. и др. Activity of 7-methyljuglone derivatives against *Mycobacterium tuberculosis* and as subversive substrates for mycothiol disulfide reductase // *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2007. Т. 15. №. 24. С. 7638-7646.

76. Wojnarski M. и др. Atovaquone-proguanil in combination with artesunate to treat multidrug-resistant *P. falciparum* malaria in Cambodia: an open-label randomized trial // *Open forum infectious disease*. – US: Oxford University Press. 2019. Т. 6, №. 9. – С. 1-14.
77. Souza R. M. C. и др. Biological activity of 1, 2, 3-triazole-2-amino-1, 4-naphthoquinone derivatives and their evaluation as therapeutic strategy for malaria control // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2023. Т. 255. С. 115400.
78. Paengsri W., Promsawan N., Baramee A. Synthesis and evaluation of 2-hydroxy-1, 4-naphthoquinone derivatives as potent antimalarial agents // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2021. Т. 69, №. 3. С. 253-257.
79. Campora M. и др. Journey on naphthoquinone and anthraquinone derivatives: new insights in Alzheimer's disease // *Pharmaceuticals*. 2021. Т. 14, №. 1. С. 33.
80. Campora M. и др. Multitarget biological profiling of new naphthoquinone and anthraquinone-based derivatives for the treatment of Alzheimer's disease // *ACS Chemical Neuroscience*. 2021. Т. 12, №. 3. С. 447-461.
81. Mezeiova E. и др. 2-Propargylamino-naphthoquinone derivatives as multipotent agents for the treatment of Alzheimer's disease // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021. Т. 211. С. 113112.
82. Chatterjee K., Mazumder P. M., Banerjee S. Vitamin K: A Potential Neuroprotective Agent // *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2023. Т. 33. С. 1-12.
83. Menchinskaya E. и др. Neuroprotective effect of 1, 4-naphthoquinones in an in vitro model of paraquat and 6-OHDA-induced neurotoxicity // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Т. 22, №. 18. С. 9933.
84. Gokmen Z. и др. Synthesis and investigation of cytotoxicity of new N-and S, S-substituted-1, 4-naphthoquinone (1, 4-NQ) derivatives on selected cancer lines // *Synthetic Communications*. 2019. Т. 49, №. 21. С. 3008-3016.
85. Wang Y. и др. Novel 1, 4-naphthoquinone derivatives induce reactive oxygen species-mediated apoptosis in liver cancer cells // *Molecular Medicine Reports*. 2019. Т. 19, №. 3. С. 1654-1664.

86. Tan H. Y. и др. Novel 2-Amino-1, 4-Naphthoquinone Derivatives Induce A549 Cell Death through Autophagy // *Molecules*. 2023. Т. 28, №. 8. С. 3289.
87. Nguyen H. T. и др. Synthesis and biological activity, and molecular modelling studies of potent cytotoxic podophyllotoxin-naphthoquinone compounds // *RSC advances*. 2022. Т. 12, №. 34. С. 22004-22019.
88. Thanh N. H. и др. Synthesis and cytotoxic evaluation of fluoro and trifluoromethyl substituents containing novel naphthoquinone-fused podophyllotoxins // *Natural Product Communications*. 2022. Т. 17, №. 10. С. 1934578X221133196.
89. Teixeira J. и др. Disruption of mitochondrial function as mechanism for anti-cancer activity of a novel mitochondriotropic menadione derivative // *Toxicology*. 2018. Т. 393. С. 123-139.
90. Goleva T. N. и др. Mitochondria-targeted 1, 4-naphthoquinone (SkQN) is a powerful prooxidant and cytotoxic agent // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 2020. Т. 1861, №. 8. С. 148210.
91. Byrne F. L. и др. Phenotypic screen for oxygen consumption rate identifies an anti-cancer naphthoquinone that induces mitochondrial oxidative stress // *Redox Biology*. 2020. Т. 28. С. 101374.
92. Finkel J. M., Harrison S. D. Fluorometric method for the determination of lapachol in serum // *Analytical Chemistry*. 1969. Т. 41, №. 13. С. 1854-1855.
93. Van Damme J. G., De Néve R. E. Fluorescence assay of hydroxynaphthoquinones // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1979. Т. 68, №. 1. С. 16-19.
94. Nevado J. J. B., Laguna M. A. G. Spectrofluorimetric determination of vitamin K3 // *Analyst*. 1998. Т. 123, №. 2. С. 287-290.
95. Aucélio R. Q. и др. Determination of lapachol in the presence of other naphthoquinones using 3MPA-CdTe quantum dots fluorescent probe // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2013. Т. 100. С. 155-160.
96. Ozgen U., Miloglu F. D., Bulut G. Quantitative determination of shikonin derivatives with UV-Vis spectrophotometric methods in the roots of *Onosma nigricaula* // *Reviews in Analytical Chemistry*. 2011. Т. 30, №. 2. С. 59-63.

97. Sidhom M. B., El-Kommos M. E. Spectrophotometric determination of menadione and menadione sodium bisulfite // *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. 1982. Т. 65, №. 1. С. 141-143.
98. Sastry C. S. P. и др. Spectrophotometric determination of menadione and menadione sodium bisulfite in pharmaceutical preparations // *International journal of pharmaceutics*. 1987. Т. 39, №. 1-2. С. 137-140.
99. Khorrami J. S. Dosage du Lawsone dans le Henné par la méthode colorimétrique // *Quarterly Journal of Crude Drug Research*. 1979. Т. 17, №. 3-4. С. 131-134.
100. Kushwaha P. и др. Densitometric high-performance thin-layer chromatographic fingerprinting method for the determination and quantification of plumbagin in *Plumbago zeylanica* L. roots // *JPC—Journal of Planar Chromatography—Modern TLC*. 2021. Т. 34. С. 323-328.
101. Usmani Z. и др. A validated, rapid and cost-efficient HPTLC method for the quantification of plumbagin and its antioxidant activity from the different extracts of *Plumbago zeylanica* L // *JPC—Journal of Planar Chromatography—Modern TLC*. 2020. Т. 33. С. 587-597.
102. Novotná P. и др. High-performance liquid chromatographic determination of some anthraquinone and naphthoquinone dyes occurring in historical textiles // *Journal of Chromatography A*. 1999. Т. 863, №. 2. С. 235-241.
103. Lobstein A. и др. Quantitative determination of naphthoquinones of *Impatiens* species // *Phytochemical Analysis*. 2001. Т. 12, №. 3. С. 202-205.
104. Hu Y. и др. Simultaneous determination of naphthoquinone derivatives in Boraginaceous herbs by high-performance liquid chromatography // *Analytica Chimica Acta*. 2006. Т. 577, №. 1. С. 26-31.
105. Babula P. и др. Using of liquid chromatography coupled with diode array detector for determination of naphthoquinones in plants and for investigation of influence of pH of cultivation medium on content of plumbagin in *Dionaea muscipula* // *Journal of Chromatography B*. 2006. Т. 842, №. 1. С. 28-35.

106. Babula P. и др. Simultaneous determination of 1, 4-naphthoquinone, lawsone, juglone and plumbagin by liquid chromatography with UV detection // *Biomed. Papers*. 2005. Т. 149, №. 1. С. 25-28.
107. Pei J., Wang Y., Yu K. Sensitive Determination of Quinones by High-Performance Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Tandem Mass Spectrometry with Methanol Derivatization // *Analytical Sciences*. 2018. Т. 34, №. 3. С. 335-340.
108. Wang Z. и др. Simultaneous determination of three naphthoquinones from *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst in beagle plasma by UPLC-MS/MS and application for pharmacokinetics study // *Acta Chromatographica*. 2021. Т.34, №. 1. С. 403-411.
109. Annisa R., Hendradi E., Yuwono M. Analysis of 1, 4-naphthoquinone in the Indonesian medical plant from extract *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr by UHPLC // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – IOP Publishing. 2020. Т. 456, №. 1. С. 012020.
110. Chai J. и др. Highly sensitive electrochemical sensor based on PEDOT: PSS- $\beta$ -CD-SWCNT-COOH modified glassy carbon electrode enables trace analysis shikonin // *Journal of The Electrochemical Society*. 2019. Т. 166, №. 6. С. B388.
111. Wu L. и др. Electrochemical Determination of the Anticancer Herbal Drug Shikonin at a Nanostructured Poly (hydroxymethylated-3, 4-ethylenedioxythiophene) Modified Electrode // *Electroanalysis*. 2013. Т. 25, №. 9. С. 2244-2250.
112. Hongbi Z., Jiying W., Baoxian Y. Electrochemical investigation of redox reactions of herbal drug shikonin and its determination in pharmaceutical preparations // *Журнал аналитической химии*. 2010. Т. 65, №. 7. С. 765-770.
113. Gao Y. S. и др. Electroanalytical method for determination of shikonin based on the enhancement effect of cyclodextrin functionalized carbon nanotubes // *Chinese Chemical Letters*. 2015. Т. 26, №. 5. С. 613-618.
114. Bayraktepe D. E., Yazan Z., Polat K. Sensitive and selective voltammetric determination of anti- cancer agent shikonin on sepiolite clay/TiO<sub>2</sub>

- nanoparticle/MWCNTs composite carbon paste sensor and investigation of its electro-oxidation mechanism // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2016. T. 780. С. 38-45.
115. An J. и др. Electrochemical study and application on shikonin at poly (diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene sheets modified glass carbon electrode // *Chemical Research in Chinese Universities*. 2013. T. 29, №. 4. С. 798-805.
116. Abreu F. C., Goulart M. O. F., Brett A. M. O. Reduction of lapachones in aqueous media at a glassy carbon electrode // *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*. 2002. T. 14, №. 1. С. 29-34.
117. Almeida J. M. S. и др. Voltammetric determination of lapachol in the presence of lapachones and in ethanolic extract of *Tabebuia impetiginosa* using an epoxy-graphite composite electrode // *Microchemical Journal*. 2017. T. 133. С. 629-637.
118. Sýs M. и др. Determination of vitamin K1 using square wave adsorptive stripping voltammetry at solid glassy carbon electrode // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2018. T. 821. С. 10-15.
119. Hahn Y., Lee H. Y. Electrochemical behavior and square wave voltammetric determination of doxorubicin hydrochloride // *Archives of pharmacal research*. 2004. T. 27. С. 31-34.
120. Singh T. A. и др. Selective and sensitive electrochemical detection of doxorubicin via a novel magnesium oxide/carbon dot nanocomposite-based sensor // *Inorganic Chemistry Communications*. 2023. T. 150. С. 110527.
121. Skalová Š. и др. Doxorubicin determination using two novel voltammetric approaches: A comparative study // *Electrochimica Acta*. 2020. T. 330. С. 135180.
122. Hashemzadeh N. и др. Graphene quantum dot modified glassy carbon electrode for the determination of doxorubicin hydrochloride in human plasma // *Journal of pharmaceutical analysis*. 2016. T. 6, №. 4. С. 235-241.

123. Karimi-Maleh H. и др. Guanine-based DNA biosensor amplified with Pt/SWCNTs nanocomposite as analytical tool for nanomolar determination of daunorubicin as an anticancer drug: a docking/experimental investigation // *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2021. Т. 60, №. 2. С. 816-823.
124. Michelitsch A. и др. Determination of 5-hydroxynaphthoquinones in phytotherapeutic *Drosera* preparations by differential pulse polarography // *Phytochemical Analysis*. 1999. Т. 10, №. 2. С. 64-68.
125. Ibis C. и др. An investigation of nucleophilic substitution reactions of 2, 3-dichloro-1, 4-naphthoquinone with various nucleophilic reagents // *Journal of the Serbian Chemical Society*. 2015. Т. 80, №. 6. С. 731-738.
126. Ayla S. S. и др. The synthesis and characterization of novel quinone–amine polymers from the reactions of 2, 3-dichloro-1, 4-naphthoquinone and polyoxypropylenediamines // *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*. 2016. Т. 191, №. 3. С. 438-443.
127. Ibis C., Ayla S. S., Asar H. Synthesis and spectral and electrochemical characterization of novel substituted 1, 4-naphthoquinone derivatives // *Synthetic Communications*. 2014. Т. 44, №. 1. С. 121-126.
128. Tandon V. K. и др. Synthesis and evaluation of 2-heteroaryl and 2, 3-diheteroaryl-1, 4-naphthoquinones that potently induce apoptosis in cancer cells // *RSC Advances*. 2014. Т. 4, №. 24. С. 12441-12447.
129. Rozanov D. и др. Targeting mitochondria in cancer therapy could provide a basis for the selective anti-cancer activity // *PLoS One*. 2019. Т. 14, №. 3. С. e0205623.
130. Schepetkin I.A., Karpenko A.S., Khlebnikov A.I., Shibinska M.O., Levandovskiy I.A., Kirpotina L.N., Danilenko N.V., Quinn M. T. Synthesis, anticancer activity, and molecular modeling of 1,4-naphthoquinones that inhibit MKK7 and Cdc25 // *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. Т. 183, С. 111719.
131. Tandon V.K., Maurya H.K., Kumair S., Rashid A., Panda D., Synthesis and evaluation of 2-heteroaryl and 2,3-diheteroaryl-1,4-naphthoquinones that potently

- induce apoptosis in cancer cells // *Journal Royal Society of Chemistry*. 2012. Т. 1, №. 1. С. 1-9.
132. Dong J., Krasnova L., Finn M.G., Sharpless K.B. Sulfur(VI) Fluoride Exchange (SuFEx): Another Good Reaction for Click // *Angewandte Chemie International Edition*. 2014. Т. 53, №. 36. С. 9430-9448.
133. Liang D. D. Silicon-Free SuFEx Reactions of Sulfonimidoyl Fluorides: Scope, Enantioselectivity, and Mechanism // *Angewandte Chemie*. 2020. Т. 132, №. 19. С. 7564-7570.
134. Даниленко Н. В. Получение и исследование биологически активных производных нафтохинона и бензоксазола: Дис. ... канд. хим. наук : 1.4.16. / Н.В. Даниленко. – Томск, 2023. – 146 с.
135. Wellington K. W., Kolesnikova N. I., Hlatshwayo V., Saha S. T., Kaur M., Motadi L. R. Anticancer activity, apoptosis and a structure–activity analysis of a series of 1,4-naphthoquinone-2,3-bis-sulfides // *Investigation New Drugs*. 2019. Т. 38. С. 274-286.
136. Korotkova E. I., Karbainov Y. A., Shevchuk A. V. Study of antioxidant properties by voltammetry // *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2002. Т. 518, №. 1. С. 56-60.
137. Voronova O. и др. Antioxidant Properties of New Phenothiazine Derivatives // *Antioxidants*. 2022. Т. 11, №. 7. С. 1371.
138. Voronova O. A. и др. Voltammetric Study of the Total Activity of Antioxidants in the Blood Serum of Patients with Neurological Diseases // *Chemosensors*. 2021. Т. 9, №. 5. С. 103.
139. Deniz N. G. и др. One-pot synthesis, characterization, and antioxidant capacity of sulfur-and oxygen-substituted 1, 4-naphthoquinones and a structural study // *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*. 2015. Т. 146. С. 2117-2126.
140. Erkovich A. V. и др. An N-Acetyl-L-Cysteine Impedance Sensor for Assessing Antioxidant Activity against Hydroxyl Radicals // *Journal of Analytical Chemistry*. 2024. Т. 79, №. 6. С. 663-670.

141. Liang D.D., Streefkerk D.E., Jordaan D., Wagemakers J., Baggerman J., Zuilhof H. Silicon-Free SuFEx Reactions of Sulfonimidoyl Fluorides: Scope, Enantioselectivity, and Mechanism // *Angewandte Chemie International Edition*. 2020. T. 59, №. 19. С. 7494-7500.
142. Satheshkumar A., Ganesh K., Elango K. P. Charge transfer facilitated direct electrophilic substitution in phenylaminonaphthoquinones: experimental, theoretical and electrochemical studies // *New Journal of Chemistry*. 2014. T. 38, №. 3. С. 993-1003.
143. Elhabiri M. и др. Electrochemical Properties of Substituted 2-Methyl-1, 4-Naphthoquinones: Redox Behavior Predictions // *Chemistry—A European Journal*. 2015. T. 21, №. 8. С. 3415-3424.
144. Faúndes J. и др. Effect of substituents and chain length in amino-1, 4-naphthoquinones on glutathione-S-transferase inhibition: molecular docking and electrochemical perspectives: a structure–activity study // *New Journal of Chemistry*. 2022. T. 46, №. 45. С. 21648-21659.
145. Cheng H. и др. 2-Hydroxy-1, 4-Naphthoquinone: A Promising Redox Mediator for Minimizing Dissolved Organic Nitrogen and Eutrophication Effects of Wastewater Effluent // *Environmental Science & Technology*. 2024. T. 58, №. 6. С. 2870-2880.
146. Louvis A. R. и др. Synthesis, characterization and biological activities of 3-aryl-1, 4-naphthoquinones—green palladium-catalysed Suzuki cross coupling // *New Journal of Chemistry*. 2016. T. 40, №. 9. С. 7643-7656.
147. Ravichandiran P., Vasanthkumar S. Synthesis of heterocyclic naphthoquinone derivatives as potent organic fluorescent switching molecules // *Journal of Taibah University for Science*. 2015. T. 9, №. 4. С. 538-547.
148. Lee J., Kim H., Park M. J. Long-life, high-rate lithium-organic batteries based on naphthoquinone derivatives // *Chemistry of Materials*. 2016. T. 28, №. 7. С. 2408-2416.

149. Bailey S.I., Ritchie I.M. A cyclic voltammetric study of the aqueous electrochemistry of some quinones // *Electrochimica Acta*. 1985. T. 30, №. 1. С. 3-12.
150. Hernández H. H. и др. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS): A review study of basic aspects of the corrosion mechanism applied to steels // *Electrochemical Impedance Spectroscopy*. 2020. С. 137-144.
151. Speiser B. From cyclic voltammetry to scanning electrochemical microscopy: Modern electroanalytical methods to study organic compounds, materials, and reactions // *Curr. Org. Chem*. 1999. T. 3. С. 171.
152. Geirovskiy. Y., Kuta Y. Basics of polarography. М.: Mir, 1965. 560 с.
153. R. Compton, C. Banks Compton, R. Understanding voltammetry. London: Imperial college press, 2011. 429 с.
154. Compton R., C. Banks Understanding voltammetry (2nd edition). London: «Imperial College Press», 2011. 497 с.
155. Bard A. J., Faulkner L. R., White H. S. Electrochemical methods: fundamentals and applications. John Wiley & Sons, 2022. 1015 с.
156. Gamboa-Valero N. и др. Hydrogen bonding complexes in the quinone-hydroquinone system and the transition to a reversible two-electron transfer mechanism. *Electrochimica Acta*. 2016. T. 188. С. 602-610.
157. Bailey S. I., Ritchie I. M. A cyclic voltammetric study of the aqueous electrochemistry of some quinones // *Electrochimica acta*. 1985. T. 30, №. 1. С. 3-12.
158. Sangeetha K., Abraham T. E. Chemical modification of papain for use in alkaline medium // *Journal of molecular catalysis B: Enzymatic*. 2006. T. 38, №. 3-6. С. 171-177.
159. Rani S. K. и др. Studies on Mn (II)-catalyzed oxidation of  $\alpha$ -amino acids by peroxomonosulphate in alkaline medium-deamination and decarboxylation: a kinetic approach // *Applied Catalysis A: General*. 2009. T. 369, №. 1-2. С. 1-7.
160. Melnik O. A., Buzin M. I., Dyachenko V. I. EFFECT OF 2, 3-BIS (POLYFLUOROALKOXY)-[1, 4]-NAPHTHOQUINONES AND 2-CHLORO-3-

(2-PROPENOXY)-[1, 4]-NAPHTHOQUINON ON HEAT RESISTANCE OF POLY (METHYL METHACRYLATE) //Online journal "Fluorine notes" ISSN. – Т. 2. – №. 141. – С. 2022.

161. Spruit C. J. P. Absorption spectra of quinones. I. Naphthoquinones and naphthohydroquinones // *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*. 1949. Т. 68, №. 4. С. 309-324.
162. Leyva E. и др. Spectral and structural characterization of 2-(fluorophenylamino)-and 2-(nitrophenylamino)-1, 4-naphthoquinone derivatives // *Journal of Molecular Structure*. 2014. Т. 1068. С. 1-7.
163. Súra R., Antalík M. Determination of proton dissociation constants (pKa) of hydroxyl groups of 2, 5-dihydroxy-1, 4-benzoquinone (DHBQ) by UV–Vis, fluorescence and ATR-FTIR spectroscopy // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2022. Т. 271. С. 120863.
164. Короткова Е. И. Планирование и организация эксперимента: учебное пособие для вузов. Томск: Изд-во ТПУ, 2010. 122 с.
165. РМГ 61-2010. Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. Москва: Стандартинформ, 2013. С. 59.

**Приложение А РАСЧЕТ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ДЛЯ  
ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА В СУБСТАНЦИИ**

1. Оценка показателя повторяемости методики анализа

Для оценки показателя повторяемости рассчитывается среднее арифметическое значение для идентичной серии результатов анализа по формуле А.1:

$$X_{m,l} = \frac{\sum_{i=1}^N X_{m,l,i}}{N}, \quad (\text{А.1})$$

где N – число параллельно сделанных опытов.

Далее рассчитывается выборочная дисперсия по формуле А.2:

$$S_{m,l}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (X_{m,l,i} - X_{m,l})^2}{N-1} \quad (\text{А.2})$$

Сумма дисперсий вычисляется, как  $\sum S_{m,l}^2$ , наивысшее значение совокупности дисперсий выбирается, как  $S_{max}^2$ . Критерий Кохрена  $G_{расч}$  рассчитывается по формуле А.3:

$$G_{расч} = \frac{S_{max}^2}{\sum_{i=1}^L S_{m,l}^2} \quad (\text{А.3})$$

Расчетный критерий Кохрена сравнивается с табличным, число степеней свободы при этом  $\nu=N-1$  и  $f=1$ , при доверительной вероятности  $P=0,95$ .

Если выполняется условие  $G_{расч} > G_{табл}$ , то взятое при этом условии значение  $S_{max}^2$  исключается из расчетов, и повторяется расчет со следующей величиной  $S_{max}^2$  и продолжается отброс до того, пока не выполнится условие  $G_{расч} \leq G_{табл}$ .

Значения  $S_{m,l}^2$ , которые не были исключены, считаются однородными, они необходимы для того, чтобы оценить средние квадратические отклонения (СКО), для установления одного значения показателя повторяемости по формуле А.4:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^L S_{m,l}^2}{L}} \quad (\text{А.4})$$

где  $L'$  – количество серий, которое осталось после проверки серий на однородность. Это значение СКО повторяемости  $\sigma^*r = Sr$  есть первая, полученная в лаборатории характеристика.

## 2. Оценка показателя внутрилабораторной прецизионности

Началом оценки показателя внутрилабораторной прецизионности методики является расчет общего среднего результата анализа  $X_m$ , соблюдая условия внутрилабораторной прецизионности А.5:

$$X_m = \frac{\sum_{l=1}^L X_{m,l}}{L} \quad (\text{A.5})$$

Расчет среднего квадратического отклонения  $S_{R,m}$  производится с помощью средних значений  $X_m$  полученных в результате проведенного анализа по формуле А.6:

$$S_{R,m} = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^L (X_{m,l} - X_m)^2}{L-1}} \quad (\text{A.6})$$

Показатель внутрилабораторной прецизионности в виде СКО  $\sigma_{Rл,m}$  для содержаний, соответствующих содержанию компонента в  $m$ -м образце, устанавливается приемлемым равным  $S_{Rл,m}$ .

## 3. Оценка показателя правильности методики анализа

Правильность методики анализа устанавливается способом оценивания показателя систематической погрешности. Во-первых, рассчитывается разность между общим средним значением установленного экспериментально количественного содержания вещества и принятого за исходное значение по формуле А.7:

$$\Theta_m = X_m - C_m \quad (\text{A.7})$$

Во-вторых, полученное значение проверяется с точки зрения значимости, т.е. по критерию Стьюдента, а именно рассчитывается  $t_{\text{расч}}$ . (формула А.8) и сравнивается со значением  $t_{\text{табл.}}$ , при этом необходимо учесть то, что число степеней свободы  $f=L'-1$  и доверительная вероятность эксперимента  $P=0,95$ .

$$t_{\text{расч}} = \frac{|\Theta|}{\sqrt{\frac{S_{Rл}^2}{L'} + \frac{A_0^2}{3}}} \quad (\text{A.8})$$

где  $\frac{S_{Rл}^2}{L'}$  - дисперсия общего среднего результата,  $\Delta_0$  - погрешность аттестованного значения раствора.

При этом, систематическая погрешность является незначимой на фоне случайного разброса, если выполняется условие  $t_{расч} < t_{табл}$ , в данном случае она принимается равной нулю и её оценку производится по формуле А.9:

$$\Delta_{в,с} = \Delta_{н,с} = |\Delta_c| = 1,96 \cdot \sqrt{\frac{S_{Rл}^2}{L'} + \frac{\Delta_0^2}{3}} = 1,96 \cdot \sigma_c \quad (A.9)$$

где  $\sigma_c$  - среднеквадратичное отклонение не исключенной систематической погрешности лаборатории.

Систематическая погрешность является значимой на фоне случайного разброса, если выполнено условие  $t_{расч} > t_{табл}$  в данном случае существует необходимость учитывать её при произведении дальнейших расчетов, формула А.10:

$$\Delta_c(в, н) = \theta \pm 1,96 \cdot \sqrt{\frac{S_{Rл}^2}{L'} + \frac{\Delta_0^2}{3}} = \theta \pm 1,96 \cdot \sigma_c \quad (A.10)$$

Для того чтобы методика анализа не нуждалась в дальнейшей доработке, существует необходимость соблюдения условия, что учет показателя  $\theta$  не должен приводить к повышению показателя от обозначенной нормы точности.

Систематическая погрешность расчета верхней и нижней границы, выбирается как максимальное по модулю значение  $|\Delta_{max}| = |\Delta_{с,н}, \Delta_{с,в}| = \Delta_c$ , в последствии записывается по формуле А.11:

$$\pm \Delta_c = \theta + 1,96 \cdot \sigma_c \quad (A.11)$$

#### 4. Оценка показателя точности методики анализа

При принятой доверительной вероятности  $P=0,95$ , на основе данных, полученных экспериментально, рассчитывается показатель точности методики анализа по формуле А.12:

$$\Delta_{л,м} = 1,96 * \sqrt{(\sigma_{Rл,м})^2 + (\sigma_{с,м})^2} \quad (A.12)$$

В том случае, когда значение систематической погрешности является значимым, расчет показателя точности рассчитывается по формуле А.13:

$$\Delta_{l,m} = \theta + 1,96 * \sqrt{(\sigma_{Rl,m})^2 + (\sigma_{c,m})^2} \quad (A.13)$$

Расчет метрологических показателей для концентрации соединений NQ1 и NQS в электрохимической ячейке проводился для трёх диапазонов от 1 до 10; от 10 до 100 и от 100 до 800 с, и для двух диапазонов от 0,5 до 1 и от 1 до 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>, для веществ NQ1 и NQS соответственно. Далее будет приведен расчет на примере трех уровней концентрации линейной зависимости из каждого диапазона.

### Соединение NQ1

#### 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Таблица А.1 — Результаты анализа при концентрации NQ1 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Погрешность истинного раствора Δm, мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	
1	0,044	1	1,14	0,96	1,05
		2	0,96	0,79	0,875
		3	0,91	0,86	0,885
		4	1,15	0,91	1,03
		5	1,13	1,02	1,075
		6	0,75	1,07	0,91
		7	0,86	1,04	0,95
		8	0,87	0,94	0,905
		9	0,98	1,11	1,045
		10	1,13	1,04	1,085
		11	1,05	0,93	0,99
		12	0,91	1,07	0,99
		13	0,92	0,94	0,93
		14	1,02	0,97	0,995
		15	1,07	1,16	1,115

Таблица А.2 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQ1 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, S <sub>m,l</sub> <sup>2</sup>	S <sub>max</sub> <sup>2</sup>	∑ S <sub>m,l</sub> <sup>2</sup>	G <sub>расч</sub>	G <sub>табл</sub>	СКО повторяемости, σr = Sr	σr (%)
0,0162						
0,01445						
0,00125						

0,0288	0,0512	0,1746	0,293	0,471	0,058	0,1079
0,00605						
0,0512						
0,0162						
0,00245						
0,00845						
0,00405						
0,0072						
0,0128						
0,0002						
0,00125						
0,00405						

Таблица А.3 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQ1 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
0,9887	0,1130	11,30

Таблица А.4 — Результаты расчета правильности при концентрации NQ1 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

$\Theta$	$t_{расч}$	$t_{табл}$	$\pm \Delta_c$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	$\pm \Delta$	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,0113	0,295	2,093	0,0865	0,2428	24,28

По 30 результатам анализа составлена таблица А.5 с обобщенными результатами, при концентрации NQ1 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.5 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQ1 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma_T$		Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$		Показатель правильности, $\pm \Delta_c$		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
1	0,1079	10,91	0,1117	11,30	0,0865	8,65	0,2428	24,28

### 6 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Таблица А.6 — Результаты анализа при концентрации NQ1 6 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение	Погрешность истинного	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>	Среднее значение
-------------------	-----------------------	---------------	---	------------------

концентрации анализируемого соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	раствора Δm, мкмоль/дм <sup>3</sup>		1	2	результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
6	0,263	1	6,52	5,67	6,095
		2	6,23	6,02	6,125
		3	5,78	6,46	6,12
		4	6,69	5,73	6,21
		5	5,86	6,24	6,05
		6	5,72	6,31	6,015
		7	5,51	6,23	5,87
		8	6,09	5,68	5,885
		9	5,54	6,12	5,83
		10	6,31	5,98	6,145
		11	5,92	5,67	5,795
		12	6,11	6,47	6,29
		13	5,84	6,22	6,03
		14	6,53	5,63	6,08
		15	5,71	6,29	6

Таблица А.7 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQ1 6 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma_r = S_r$	$\sigma_r$ (%)
0,36125	0,4608	2,6289	0,175	0,471	0,4186	6,94
0,02205						
0,2312						
0,4608						
0,0722						
0,17405						
0,2592						
0,08405						
0,1682						
0,05445						
0,03125						
0,0648						
0,0722						
0,405						
0,1682						

Таблица А.8 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQ1 6 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
6,036	0,4333	7,18

Таблица А.9 — Результаты расчета правильности при концентрации NQ1 6 мкмоль/дм<sup>3</sup>

$\Theta$	$t_{расч}$	$t_{табл}$	$\pm \Delta_c$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	$\pm \Delta$	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,036	0,191	2,093	0,4056	0,9623	16,04

По 30 результатам анализа составлена таблица А.10 с обобщенными результатами, при концентрации NQ1 6 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.10 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQ1 6 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$		Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$		Показатель правильности, $\pm \Delta_c$		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
6	0,4186	6,94	0,4333	7,18	0,4056	6,76	0,9623	16,04

### 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Таблица А.11 — Результаты анализа при концентрации NQ1 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Погрешность истинного раствора $\Delta m$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	
10	0,44	1	10,38	9,51	9,945
		2	9,65	10,31	9,98
		3	10,41	9,73	10,07
		4	10,52	9,64	10,08
		5	10,26	9,56	9,91
		6	9,57	10,25	9,91
		7	10,42	9,71	10,065
		8	9,54	10,24	9,89
		9	9,68	10,29	9,985
		10	10,14	9,67	9,905
		11	10,23	9,75	9,99
		12	9,84	10,46	10,15
		13	10,18	9,53	9,855
		14	9,64	10,41	10,025

		15	9,72	10,27	9,995
--	--	----	------	-------	-------

Таблица А.12 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQ1 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma_r = S_r$	$\sigma_r$ (%)
0,37845	0,3872	3,4508	0,112	0,471	0,4796	4,80
0,2178						
0,2312						
0,3872						
0,245						
0,2312						
0,25205						
0,245						
0,18605						
0,11045						
0,1152						
0,1922						
0,21125						
0,29645						
0,15125						

Таблица А.13 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQ1 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
9,9837	0,4965	4,97

Таблица А.14 — Результаты расчета правильности при концентрации NQ1 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

$\Theta$	$t_{расч}$	$t_{табл}$	$\pm \Delta_c$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	$\pm \Delta$	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,0163	0,058	2,093	0,5721	1,1370	11,37

По 30 результатам анализа составлена таблица А.15 с обобщенными результатами, при концентрации NQ1 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.15 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQ1 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$		Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$		Показатель правильности, $\pm \Delta_c$		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
10	0,4796	4,80	0,4965	4,97	0,5721	5,7	1,1370	11,37

**60 мкмоль/дм<sup>3</sup>**Таблица А.16 — Результаты анализа при концентрации NQ1 60 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Погрешность истинного раствора $\Delta m$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	
60	2,63	1	62,04	60,18	61,11
		2	62,58	61,21	61,895
		3	58,76	60,83	59,795
		4	59,04	58,34	58,69
		5	61,54	59,32	60,43
		6	58,54	59,43	58,985
		7	59,14	61,53	60,335
		8	61,23	60,87	61,05
		9	60,78	61,51	61,145
		10	62,24	60,02	61,13
		11	57,92	59,85	58,885
		12	59,24	57,89	58,565
		13	58,29	62,03	60,16
		14	62,21	58,44	60,325
		15	61,84	58,32	60,08

Таблица А.17 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQ1 60 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma = S_r$	$\sigma$ (%)
1,7298						
0,93845						
2,14245						
0,245						
2,4642						
0,39605						
2,85605						

0,0648						
0,26645						
2,4642						
1,86245						
0,91125						
6,9938						
7,10645						
6,1952	7,1065	36,6366	0,194	0,471	1,56	2,60

Таблица А.18 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQ1 60 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
60,172	1,62	2,69

Таблица А.19 — Результаты расчета правильности при концентрации NQ1 60 мкмоль/дм<sup>3</sup>

$\Theta$	$t_{расч}$	$t_{табл}$	$\pm \Delta_c$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	$\pm \Delta$	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,172	0,109	2,093	3,26	4,60	7,66

По 30 результатам анализа составлена таблица А.20 с обобщенными результатами, при концентрации NQ1 60 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.20 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQ1 60 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$		Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$		Показатель правильности, $\pm \Delta_c$		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
60	1,56	2,60	1,62	2,69	3,26	5,43	4,60	7,66

### 100 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Таблица А.21 — Результаты анализа при концентрации NQ1 100 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Погрешность истинного раствора $\Delta t$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	

100	4,38	1	101,05	99,76	100,405
		2	99,68	101,97	100,825
		3	104,03	100,89	102,46
		4	98,84	102,08	100,46
		5	101,89	98,96	100,425
		6	103,01	98,9	100,955
		7	98,26	100,03	99,145
		8	99,64	101,02	100,33
		9	99,23	101,13	100,18
		10	98,54	99,08	98,81
		11	100,93	98,87	99,9
		12	101,96	100,96	101,46
		13	102,04	102,01	102,025
		14	99,93	98,89	99,41
		15	98,02	99,96	98,99

Таблица А.22 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQ1 100 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma = Sr$	$\sigma$ (%)
0,83205	8,45	35,89	0,235	0,471	1,55	1,54
2,62205						
4,9298						
5,2488						
4,29245						
8,44605						
1,56645						
0,9522						
1,805						
0,1458						
2,1218						
0,5						
0,00045						
0,5408						
1,8818						

Таблица А.23 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQ1 100 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
100,385	1,60	1,59

Таблица А.24 — Результаты расчета правильности при концентрации NQ1 100 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Θ	t <sub>расч</sub>	t <sub>табл</sub>	± Δс, мкмоль/дм <sup>3</sup>	± Δ	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,385	0,150	2,093	5,41	6,31	6,31

По 30 результатам анализа составлена таблица А.25 с обобщенными результатами, при концентрации NQ1 100 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.25 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQ1 100 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, σ <sub>г</sub>		Показатель внутрिलाбораторной прецизионности, σ <sub>г</sub>		Показатель правильности, ± Δс		Показатель точности, ± Δ	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
100	1,55	1,54	1,60	1,59	5,41	5,41	6,31	6,31

#### 400 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Таблица А.26 — Результаты анализа при концентрации NQ1 400 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Погрешность истинного раствора Δ <sub>т</sub> , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	
400	17,52	1	403,07	398,42	400,745
		2	402,75	402,69	402,72
		3	398,51	400,82	399,665
		4	399,22	402,94	401,08
		5	400,23	399,28	399,755
		6	403,46	398,11	400,785
		7	401,49	399,05	400,27
		8	404,82	403,72	404,27
		9	403,04	399,84	401,44
		10	397,21	398,24	397,725
		11	398,75	403,13	400,94
		12	400,08	399,06	399,57
		13	398,74	402,72	400,73
		14	402,93	398,84	400,885
		15	403,31	402,79	403,05

Таблица А.27 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQ1 400 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma = S_r$	$\sigma$ (%)
10,81125	14,31	70,93	0,202	0,471	2,18	0,54
0,0018						
2,66805						
6,9192						
0,45125						
14,31125						
2,9768						
0,605						
5,12						
0,53045						
9,5922						
0,5202						
7,9202						
8,36405						
0,1352						

Таблица А.28 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQ1 400 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
400,91	2,25	0,56

Таблица А.29 — Результаты расчета правильности при концентрации NQ1 400 мкмоль/дм<sup>3</sup>

$\Theta$	$t_{расч}$	$t_{табл}$	$\pm \Delta_c$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	$\pm \Delta$	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,91	0,090	2,093	20,77	21,26	5,31

По 30 результатам анализа составлена таблица А.30 с обобщенными результатами, при концентрации NQ1 400 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.30 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQ1 400 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$		Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$		Показатель правильности, $\pm \Delta_c$		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
400	2,18	0,54	2,25	0,56	20,77	5,19	21,26	5,31

**800 мкмоль/дм<sup>3</sup>**Таблица А.31 — Результаты анализа при концентрации NQ1 800 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Погрешность истинного раствора $\Delta_m$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	
800	35,05	1	804,18	799,19	801,685
		2	797,42	799,41	798,415
		3	798,57	799,06	798,815
		4	800,48	804,59	802,535
		5	803,47	802,65	803,06
		6	801,69	798,18	799,935
		7	802,97	801,69	802,33
		8	798,78	799,13	798,955
		9	800,74	798,37	799,555
		10	799,36	799,24	799,3
		11	802,12	800,82	801,47
		12	798,48	805,67	802,075
		13	799,32	798,08	798,7
		14	801,24	802,94	802,09
		15	798,65	798,89	798,77

Таблица А.32 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQ1 800 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma = S_r$	$\sigma$ (%)
12,45005						
1,98005						
0,12005						
8,44605						
0,3362						
6,16005						
0,8192						
0,06125						

2,80845						
0,0072						
0,845						
25,84805						
0,7688						
1,445						
0,0288	25,85	62,12	0,416	0,471	2,035	0,25

Таблица А.33 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQ1 800 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
800,51	2,11	0,26

Таблица А.34 — Результаты расчета правильности при концентрации NQ1 800 мкмоль/дм<sup>3</sup>

$\Theta$	$t_{расч}$	$t_{табл}$	$\pm \Delta_c$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	$\pm \Delta$	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,51	0,025	2,093	40,19	40,40	5,05

По 30 результатам анализа составлена таблица А.35 с обобщенными результатами, при концентрации NQ1 800 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.35 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQ1 800 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQ1 мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$		Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$		Показатель правильности, $\pm \Delta_c$		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
800	2,035	0,25	2,11	0,26	40,19	5,02	40,40	5,05

### Соединение NQS

#### 0,5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Таблица А.36 — Результаты анализа при концентрации NQS 0,5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQS	Погрешность истинного раствора $\Delta m$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	

мкмоль/дм <sup>3</sup>					
0,5	0,022	1	0,441	0,537	0,489
		2	0,569	0,452	0,5105
		3	0,461	0,535	0,498
		4	0,529	0,578	0,5535
		5	0,469	0,549	0,509
		6	0,468	0,482	0,475
		7	0,504	0,479	0,4915
		8	0,462	0,532	0,497
		9	0,532	0,481	0,5065
		10	0,476	0,549	0,5125
		11	0,458	0,523	0,4905
		12	0,524	0,448	0,486
		13	0,547	0,482	0,5145
		14	0,443	0,531	0,487
		15	0,542	0,472	0,507

Таблица А.37 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQS 0,5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma_r = S_r$	$\sigma_r$ (%)
0,004608	0,0068	0,039	0,176	0,471	0,051	10,14
0,0068445						
0,002738						
0,0012005						
0,0032						
9,8E-05						
0,0003125						
0,00245						
0,0013005						
0,0026645						
0,0021125						
0,002888						
0,0021125						
0,003872						
0,00245						

Таблица А.38 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQS 0,5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
0,502	0,053	10,50

Таблица А.39 — Результаты расчета правильности при концентрации NQS 0,5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Θ	t <sub>расч</sub>	t <sub>табл</sub>	± Δс, мкмоль/дм <sup>3</sup>	± Δ	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,002	0,099	2,093	0,038	0,11	22,26

По 30 результатам анализа составлена таблица А.40 с обобщенными результатами, при концентрации NQS 0,5 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.40 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQS 0,5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQS мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, σ <sub>г</sub>		Показатель внутрилабораторной прецизионности, σ <sub>г</sub>		Показатель правильности, ± Δс		Показатель точности, ± Δ	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,5	0,042	10,14	0,053	10,50	0,038	7,65	0,11	22,26

### 0,7 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Таблица А.41 — Результаты анализа при концентрации NQS 0,7 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQS мкмоль/дм <sup>3</sup>	Погрешность истинного раствора Δ <sub>т</sub> , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	
0,7	0,031	1	0,655	0,721	0,688
		2	0,729	0,658	0,6935
		3	0,652	0,741	0,6965
		4	0,664	0,753	0,7085
		5	0,649	0,746	0,6975
		6	0,735	0,764	0,7495
		7	0,667	0,757	0,712
		8	0,767	0,712	0,7395
		9	0,735	0,672	0,7035
		10	0,648	0,698	0,673
		11	0,732	0,652	0,692
		12	0,729	0,648	0,6885
		13	0,646	0,735	0,6905
		14	0,761	0,674	0,7175
		15	0,727	0,656	0,6915

Таблица А.42 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQS 0,7 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma_r = S_r$	$\sigma_r$ (%)
0,002178	0,0047	0,043	0,109	0,471	0,054	7,64
0,0025205						
0,0039605						
0,0039605						
0,0047045						
0,0004205						
0,00405						
0,0015125						
0,0019845						
0,00125						
0,0032						
0,0032805						
0,0039605						
0,0037845						
0,0025205						

Таблица А.43 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQS 0,7 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
0,703	0,056	7,91

Таблица А.44 — Результаты расчета правильности при концентрации NQS 0,7 мкмоль/дм<sup>3</sup>

$\Theta$	$t_{расч}$	$t_{табл}$	$\pm \Delta_c$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	$\pm \Delta$	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,003	0,121	2,093	0,047	0,121	17,22

По 30 результатам анализа составлена таблица А.45 с обобщенными результатами, при концентрации NQS 0,7 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.45 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQS 0,7 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQS мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$		Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$		Показатель правильности, $\pm \Delta_c$		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,7	0,054	7,64	0,056	7,91	0,047	6,78	0,121	17,22

**1 мкмоль/дм<sup>3</sup>**

Таблица А.46 — Результаты анализа при концентрации NQS 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQS мкмоль/дм <sup>3</sup>	Погрешность истинного раствора $\Delta m$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	
1	0,044	1	0,922	0,945	0,9335
		2	0,937	0,972	0,9545
		3	1,083	0,947	1,015
		4	0,968	1,041	1,0045
		5	1,051	1,043	1,047
		6	0,954	1,048	1,001
		7	0,968	1,046	1,007
		8	1,036	0,974	1,005
		9	1,038	0,979	1,0085
		10	0,937	0,974	0,9555
		11	0,962	1,047	1,0045
		12	0,964	1,048	1,006
		13	0,956	0,972	0,964
		14	1,054	0,942	0,998
		15	1,045	0,957	1,001

Таблица А.47 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQS 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma = S_r$	$\sigma$ (%)
0,0002645						
0,0006125						
0,009248						
0,0026645						
3,2E-05						
0,004418						

0,003042	0,0092	0,042	0,220	0,471	0,053	5,33
0,001922						
0,0017405						
0,0006845						
0,0036125						
0,003528						
0,000128						
0,006272						
0,003872						

Таблица А.48 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQS 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
0,9937	0,055	5,52

Таблица А.49 — Результаты расчета правильности при концентрации NQS 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

$\Theta$	$t_{расч}$	$t_{табл}$	$\pm \Delta_c$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	$\pm \Delta$	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,0063	0,219	2,093	0,063	0,1278	12,78

По 30 результатам анализа составлена таблица А.50 с обобщенными результатами, при концентрации NQS 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.50 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQS 1 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQS мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$		Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$		Показатель правильности, $\pm \Delta_c$		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
1	0,053	5,33	0,055	5,52	0,063	6,31	0,1278	12,78

### 5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Таблица А.51 — Результаты анализа при концентрации NQS 5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQS	Погрешность истинного раствора $\Delta m$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	

мкмоль/дм <sup>3</sup>					
5	0,219	1	5,29	4,84	5,065
		2	5,02	4,87	4,945
		3	5,29	5,41	5,35
		4	4,94	5,17	5,055
		5	5,07	5,18	5,125
		6	5,17	5,31	5,24
		7	4,71	4,94	4,825
		8	4,94	5,02	4,98
		9	4,85	4,72	4,785
		10	5,18	4,68	4,93
		11	4,73	5,07	4,9
		12	4,87	5,13	5
		13	5,21	4,84	5,025
		14	5,12	4,97	5,045
		15	4,96	4,87	4,915

Таблица А.52 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQS 5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma = S_r$	$\sigma$ (%)
0,10125	0,125	0,50045	0,250	0,471	0,183	3,64
0,01125						
0,0072						
0,02645						
0,00605						
0,0098						
0,02645						
0,0032						
0,00845						
0,125						
0,0578						
0,0338						
0,06845						
0,01125						
0,00405						

Таблица А.53 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQS 5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
5,012	0,189	3,77

Таблица А.54 — Результаты расчета правильности при концентрации NQS 5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Θ	t <sub>расч</sub>	t <sub>табл</sub>	± Δс, мкмоль/дм <sup>3</sup>	± Δ	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,012	0,091	2,093	0,278	0,468	9,37

По 30 результатам анализа составлена таблица А.55 с обобщенными результатами, при концентрации NQS 5 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.55 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQS 5 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQS мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, σ <sub>г</sub>		Показатель внутрилабораторной прецизионности, σ <sub>г</sub>		Показатель правильности, ± Δс		Показатель точности, ± Δ	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
5	0,183	3,64	0,189	3,77	0,278	5,56	0,468	9,37

### 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Таблица А.56 — Результаты анализа при концентрации NQS 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Истинное значение концентрации анализируемого соединения NQS мкмоль/дм <sup>3</sup>	Погрешность истинного раствора Δ <sub>т</sub> , мкмоль/дм <sup>3</sup>	№ серии, L=15	Результаты параллельных измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>		Среднее значение результатов измерений, мкмоль/дм <sup>3</sup>
			1	2	
10	0,438	1	10,14	9,79	9,965
		2	10,12	10,34	10,23
		3	9,81	10,06	9,935
		4	10,28	9,82	10,05
		5	10,35	9,83	10,09
		6	10,67	10,19	10,43
		7	9,23	9,86	9,545
		8	9,45	9,63	9,54
		9	10,67	10,18	10,425
		10	10,03	9,61	9,82
		11	9,67	9,96	9,815
		12	9,86	9,94	9,9
		13	10,13	10,27	10,2
		14	10,02	9,76	9,89
		15	10,54	10,32	10,43

Таблица А.57 — Результаты расчета повторяемости при концентрации NQS 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Выборочная дисперсия результатов параллельных измерений, $S_{m,l}^2$	$S_{max}^2$	$\sum S_{m,l}^2$	$G_{расч}$	$G_{табл}$	СКО повторяемости, $\sigma_r = S_r$	$\sigma_r$ (%)
0,06125	0,19845	1,00885	0,197	0,471	0,259	2,59
0,0242						
0,03125						
0,1058						
0,1352						
0,1152						
0,19845						
0,0162						
0,12005						
0,0882						
0,04205						
0,0032						
0,0098						
0,0338						
0,0242						

Таблица А.58 — Результаты расчета показателя внутрилабораторной прецизионности при концентрации NQS 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Общее среднее арифметическое по 15 сериям	$S_R = \sigma_R$ (мкмоль/дм <sup>3</sup> )	$\sigma_R$ (%)
10,018	0,268	2,68

Таблица А.59 — Результаты расчета правильности при концентрации NQS 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

$\Theta$	$t_{расч}$	$t_{табл}$	$\pm \Delta_c$ , мкмоль/дм <sup>3</sup>	$\pm \Delta$	
				мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
0,018	0,067	2,093	0,532	0,753	7,53

По 30 результатам анализа составлена таблица А.60 с обобщенными результатами, при концентрации NQS 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>.

Таблица А.60 — Результаты расчета метрологических характеристик при концентрации NQS 10 мкмоль/дм<sup>3</sup>

Уровень концентрации соединения NQS мкмоль/дм <sup>3</sup>	Показатель повторяемости, $\sigma$		Показатель внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_R$		Показатель правильности, $\pm \Delta_c$		Показатель точности, $\pm \Delta$	
	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%	мкмоль/дм <sup>3</sup>	%
10	0,259	2,59	0,268	2,68	0,532	5,32	0,753	7,53

Обобщенные результаты полученных данных приведены в разделе 6.6.1.

Рассчитанные и представленные выше показатели вольтамперометрических методик определения соединений NQ1 и NQS в субстанции являются установленными характеристиками погрешности для совокупности результатов анализа, которые были получены по разработанным методикам в отдельной лаборатории.