

УДК 615.91

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

DOI: 10.37903/vsgma.2021.2.3

**МЕТОДИКА ИЗОЛИРОВАНИЯ НЕВИРАПИНА ИЗ РАСТВОРОВ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

© Илларионова Е.А., Гончикова Ю.А., Костенко Е.С.

*Иркутский государственный медицинский университет, Россия, 664003, Иркутск, ул. Карла Маркса, 10**Резюме*

**Цель.** Разработка новой методики изолирования невирапина из водных растворов, мочи и плазмы крови для целей химико-токсикологического анализа.

**Методика.** В качестве метода изолирования был выбран метод жидкость-жидкостной экстракции. В ходе эксперимента было изучено влияние на степень экстракции невирапина таких параметров, как: природа органического растворителя, время и кратность экстракции, pH среды, действие электролитов. В качестве объектов исследования использовали водные растворы и биологические жидкости: моча, слюна, плазма крови. Для идентификации и количественного определения использовали хроматографию в тонком слое сорбента (ТСХ) и УФ – спектрофотометрию. Статистическая обработка результатов проводилась при доверительной вероятности 95%.

**Результаты.** Эксперимент по изолированию невирапина из водных растворов показал, что оптимальным органическим растворителем является дихлорметан, Время экстракции – 3 минуты однократно. Среда слабощелочная, pH 8. Присутствие электролита на результаты не повлияло. При заданных условиях степень экстракции в среднем составила 88%. Разработанная методика была применена для изолирования невирапина из модельных смесей мочи, слюны и плазмы крови. Выход вещества из мочи с увеличением дозировки в среднем составил  $71 \pm 4,8\%$  (200 мг),  $80 \pm 4,8\%$  (400 мг) и  $89 \pm 4,8\%$  (600 мг). Из слюны изолировали невирапин в концентрациях  $65 \pm 4,3\%$  (200 мг),  $68 \pm 4,8\%$  (400 мг) и  $69 \pm 4,6\%$  (600 мг). Для плазмы крови результаты составили  $68 \pm 4,8\%$ ,  $71 \pm 4,9\%$  и  $76 \pm 4,9\%$  соответственно. Относительная ошибка эксперимента не превышает 4,6% для мочи; 4,8% для слюны; 4,9% для плазмы крови.

**Заключение.** Разработана новая методика изолирования невирапина из водных растворов и биологических жидкостей, а также методики его идентификации и количественного определения. Валидационная оценка разработанных методик свидетельствует о их пригодности для химико-токсикологического анализа.

*Ключевые слова:* ВИЧ, невирапин, жидкость-жидкостная экстракция, спектрофотометрия

**METHODS OF ISOLATING NEVIRAPINE FROM SOLUTIONS AND BODY FLUIDS FOR THE PURPOSE OF CHEMICAL TOXICOLOGICAL ANALYSIS**

Illarionova E.A., Gonchikova Yu.A., Kostenko E.S.

*Irkutsk State Medical University, Russia, 664003, Irkutsk, Karl Marx street, 10**Abstract*

**Objective.** Development of a new method for isolating nevirapine from aqueous solutions, urine and blood plasma for the purpose of chemical toxicological analysis.

**Methods.** Liquid-liquid extraction was chosen as the isolation method. In the course of the experiment, the effect of such parameters as the nature of the organic solvent, the time and frequency of extraction, the pH of the medium, and the action of electrolytes on the degree of extraction of nevirapine was studied. As objects of research, we used aqueous solutions and biological fluids: urine, saliva, blood plasma. For identification and quantification, thin layer chromatography (TLC) and UV spectrophotometry were used. Statistical processing of the results was carried out with a confidence level of 95%.

**Results.** The experiment on the isolation of nevirapine from aqueous solutions showed that the optimal organic solvent is dichloromethane, the extraction time is 3 minutes once. The medium is slightly

alkaline, pH 8. The presence of electrolyte did not affect the results. Under the given conditions, the extraction rate averaged 88%. The developed technique was applied to isolate nevirapine from model mixtures of urine, saliva, and blood plasma. The release of the substance from the urine with increasing dosage averaged  $71 \pm 4.8\%$  (200 mg),  $80 \pm 4.8\%$  (400 mg) and  $89 \pm 4.8\%$  (600 mg). Nevirapine was isolated from saliva at concentrations of  $65 \pm 4.3\%$  (200 mg),  $68 \pm 4.8\%$  (400 mg), and  $69 \pm 4.6\%$  (600 mg). For blood plasma, the results were  $68 \pm 4.8\%$ ,  $71 \pm 4.9\%$  and  $76 \pm 4.9\%$ , respectively. The relative experimental error does not exceed 4.6% for urine; 4.8% for saliva; 4.9% for blood plasma.

**Conclusions.** A new method for the isolation of nevirapine from aqueous solutions and biological fluids, as well as a method for its identification and quantitative determination, has been developed. The validation assessment of the developed methods indicates their suitability for chemical and toxicological analysis.

*Keywords:* HIV, nevirapine, liquid-liquid extraction, spectrophotometry

## Введение

ВИЧ-инфекция – вирусное заболевание, которое медленно прогрессирует и представляет огромную опасность для здоровья человека. В настоящее время данное заболевание широко распространено по всему миру, в том числе и в России.

ВИЧ излечить нельзя, но пациентам проводят поддерживающую антиретровирусную терапию, что значительно продлевает их жизнь [9]. Современная медицина использует множество препаратов поддерживающей терапии таких больных, один из них – невирапин. Невирапин представляет собой антиретровирусный препарат, нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы ВИЧ синтетического происхождения, для приёма внутрь [11]. Выпускается в виде таблеток по 200 мг и в виде суспензии для детей дозировкой 50 мг/5 мл.

Для борьбы с ВИЧ используют сложные схемы лечения, подразумевающие одновременный приём не только одного противовирусного средства, а целого ряда препаратов в течении всей жизни. При условии длительного приёма и сочетания препаратов разных фармакологических групп возможно возникновение лекарственных отравлений, которые могут привести даже к летальному исходу [5,10].

Химико-токсикологический анализ невирапина, а также его комбинаций с другими лекарственными средствами не нашел отражения в литературе.

Целью исследования явилась разработка методики изолирования, обнаружения и количественного определения невирапина из растворов и биологического материала для целей химико-токсикологического анализа.

## Методика

Теоретическая часть исследования включала контент-анализ достоверных источников. Подобраны и обработаны обзорные, справочные, научные литературные источники: монографии, учебники, ГОСТ, ОСТ, ГОСТ Р, патентная информация и интернет-ресурсы по теме исследования.

Для обнаружения и количественного определения невирапина в извлечениях использовали хроматографию в тонком слое сорбента (ТСХ) и УФ-спектрофотометрию [2, 4]. Электронные спектры измеряли на спектрофотометре СФ-2000 (РФ) в кювете с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн 220-400 нм. Величину рН контролировали с помощью универсального ионометра ИТ-1101.

При проведении экспериментальной части исследования проводили изолирование таблеток невирапина дозировкой 200 мг методом жидкость-жидкостной экстракции. В ходе эксперимента использовали 0,1М раствор хлористоводородной кислоты, натрия гидроксида раствор 0,1 М, аммиака раствор 10%, спирт этиловый 95%, органические растворители (трихлорметан, дихлорметан, диэтиловый эфир, этилацетат, гептан), растворы электролитов (NaCl раствор 20%, NaCl насыщенный раствор, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> раствор 5%, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> насыщенный раствор, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> раствор 20% и (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> насыщенный раствор).

Методика изолирования методом жидкость-жидкостной экстракции: навеску препарата 0,2 г растворяли в 20 мл хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М. 1 мл раствора помещали в

пробирку и доводили значение pH от 2 до 11, используя хлористоводородной кислоты раствор 0,1М или аммиака раствор 10%. Затем экстрагировали органическим растворителем однократно в течение 1 минуты. Оставляли при комнатной температуре до полного удаления органического растворителя.

Обнаружение невирапина в извлечениях методом тонкослойной хроматографии проводили по следующей методике: на линию старта хроматографической пластинки Сорбфил микропипеткой наносили по 0,4 мл извлечений невирапина [14]. Пластинку высушивали и хроматографировали в системе трихлорметан-этанол-аммиака раствор концентрированный 25% (30:30:1) восходящим методом. После прохождения фронта растворителя пластинку вынимали из камеры, сушили при комнатной температуре в течение 20 мин., детектировали пятна в УФ-свете при длине волны 254 нм.

Обнаружение и количественное определение невирапина в извлечениях методом УФ-спектрофотометрии проводили по следующей методике: к сухому остатку добавляли 10 мл хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М. 1 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора до метки тем же растворителем. Для идентификации электронный спектр измеряли на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн 220-400 нм. В качестве раствора сравнения использовали хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М.

Для количественного определения измерение оптической плотности приготовленного раствора проводили на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 313 нм [2]. В качестве раствора сравнения использовали хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора рабочего стандартного образца (PCO) невирапина [4, 6].

Приготовление PCO невирапина: Около 0,06 г (точная навеска) субстанции невирапина растворяли в 20 мл хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М в мерной колбе вместимостью 100 мл, перемешивали и доводили объем раствора этим же растворителем до метки. 1 мл приготовленного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем раствора до метки хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М.

Методика изолирования невирапина из модельной смеси мочи: навеску невирапина 0,2 г, 0,4 г и 0,6 г растворяли в 15 мл воды и вносили в 35 мл мочи, оставляли при комнатной температуре на 24 ч. Модельную смесь фильтровали. 1 мл фильтрата переносили в пробирку, доводили pH до 8 аммиака раствором 10% и экстрагировали дихлорметаном однократно в течение 3 мин.

Методика изолирования невирапина из модельной смеси слюны: навеску невирапина 0,2 г, 0,4 г и 0,6 г растворяли в 15 мл воды. 20 мл слюны замораживали на 24 часа, с целью снижения активности ферментов, затем размораживали и смешивали с раствором невирапина в 3 концентрациях, оставляли на 24 часа. В модельный образец слюны добавляли 1 мл трихлоруксусной кислоты раствор 50% с целью осаждения белков [14]. Центрифугировали. 1 мл центрифугата переносили в пробирку, доводили pH до 8 аммиака раствором 10% и экстрагировали дихлорметаном однократно в течение 3 мин.

Методика изолирования невирапина из модельной смеси плазмы крови: навеску невирапина 0,2 г, 0,4 г и 0,6 г растворяли в 15 мл воды и вносили в 10 мл плазмы крови, оставляли при комнатной температуре на 24 ч. После этого смесь центрифугировали, раствор, образующийся над осадком, отделяли и использовали для дальнейшего анализа [1]. 1 мл центрифугата переносили в пробирку, доводили pH до 8 аммиака раствором 10% и экстрагировали дихлорметаном однократно в течение 3 мин.

Полученные результаты статистически обрабатывались с применением программы Windows Excel и с использованием t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при доверительной вероятности  $p < 0,05$  [8].

## Результаты исследования и их обсуждение

Идентификацию невирапина методом тонкослойной хроматографии проводили с использованием системы трихлорметан-этанол-аммиака раствор концентрированный 25% (30:30:1) восходящим методом. Значение  $R_f$  пятна стандартного образца свидетеля невирапина соответствовало (0,43±0,01).

Невирапин обладает свойством поглощать электромагнитное излучение за счет наличия в его структуре цепочки сопряженных связей. Учитывая наличие данного свойства, возможно использование метода УФ-спектрофотометрии для разработки методик его идентификации и количественного определения. УФ-спектр стандартного образца невирапина при pH 1,1 (рис. 1) характеризуется наличием одной полосы поглощения с максимумом при длине волны  $313 \pm 1$  нм и «плеча» в диапазоне длин волн 261-288 нм. При увеличении pH до 3,0 спектры поглощения невирапина характеризуются наличием двух полос поглощения и наблюдается переход максимумов поглощения в коротковолновую область, максимумы поглощения фиксируются при длинах волн  $214 \pm 1$  нм,  $284 \pm 1$  нм. В щелочном растворе при pH 13,0 в спектре поглощения невирапина наблюдаются две полосы поглощения при длинах волн  $235 \pm 1$  нм,  $297 \pm 1$  нм.

Изучение стабильности растворов невирапина в течение суток показало, что его раствор при pH 1,1 наиболее стабилен, поэтому в качестве оптимального растворителя для спектрофотометрического определения невирапина был выбран хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М, в котором спектр поглощения невирапина характеризуется максимумом поглощения при длине волны  $313 \pm 1$  нм (рис. 1).

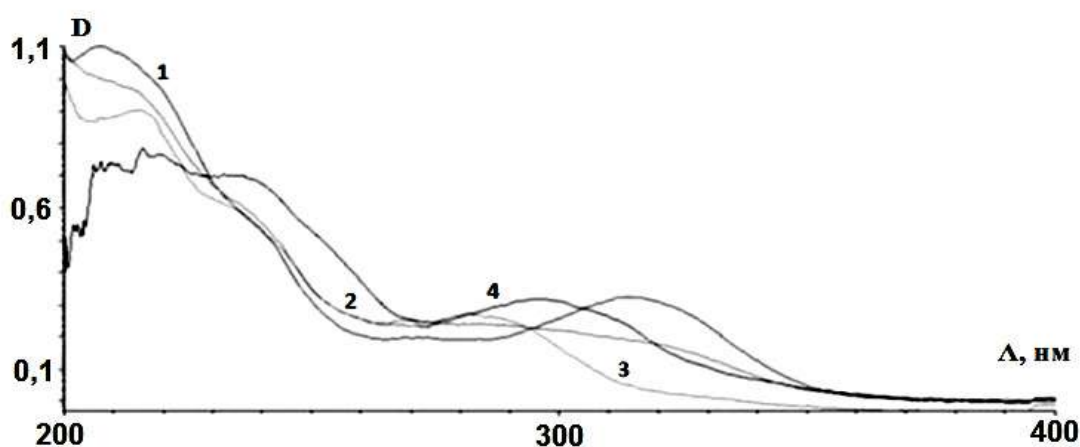


Рис. 1. УФ-спектр 0,001% раствора невирапина при различных значениях pH: 1) pH 1,1 – хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М; 2) pH 3,0 – вода очищенная; 3) pH 2,9 – спирт этиловый 95%; 4) pH 13,0 – натрия гидроксида раствор 0,1 М

К факторам, влияющим на степень извлечения вещества органическим растворителем методом жидкость-жидкостной экстракции, относятся: природа вещества и экстрагента, pH раствора, наличие электролитов, время и кратность экстракции [4]. В ходе исследования данные факторы были подробно изучены.

Трихлорметан, дихлорметан, этилацетат, диэтиловый эфир, гептан не растворяют невирапин, а также не смешиваются с водой, поэтому были предложены в качестве органических растворителей для изучения процесса экстракции невирапина. Невирапин является веществом, проявляющим основные свойства, так как в структуре есть атомы азота, которые эти свойства обуславливают. В связи с этим для приготовления исходных растворов невирапина в качестве растворителя был выбран хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М, в котором невирапин достаточно хорошо растворяется [7]. Результаты анализа представлены в виде диаграммы (рис. 2).

Определено, что оптимальным экстрагентом для изолирования невирапина из раствора является дихлорметан, который экстрагирует невирапин при pH 8 в наибольшем количестве. Степень экстракции составила  $68\% \pm 1,9\%$ .

Электролит может оказывать как всаливающее так и высаливающее действие на степень экстракции вещества [3]. Высаливающее действие электролита дает возможность увеличить переход вещества в органический растворитель. Это происходит за счет того, что электролит отнимает гидратную оболочку у молекул вещества и снижает его растворимость в воде [13]. Изучение влияния электролитов на степень экстракции невирапина (табл. 1) показало, что растворы электролитов насыщенный и 20% раствор  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  оказывают наибольшее всаливающее действие на извлечение невирапина. В их присутствии степень экстракции уменьшилась до  $42,1 \pm 2,8\%$  и  $41,7 \pm 2,3\%$  соответственно. Высаливающее действие на невирапин электролиты не оказывают.

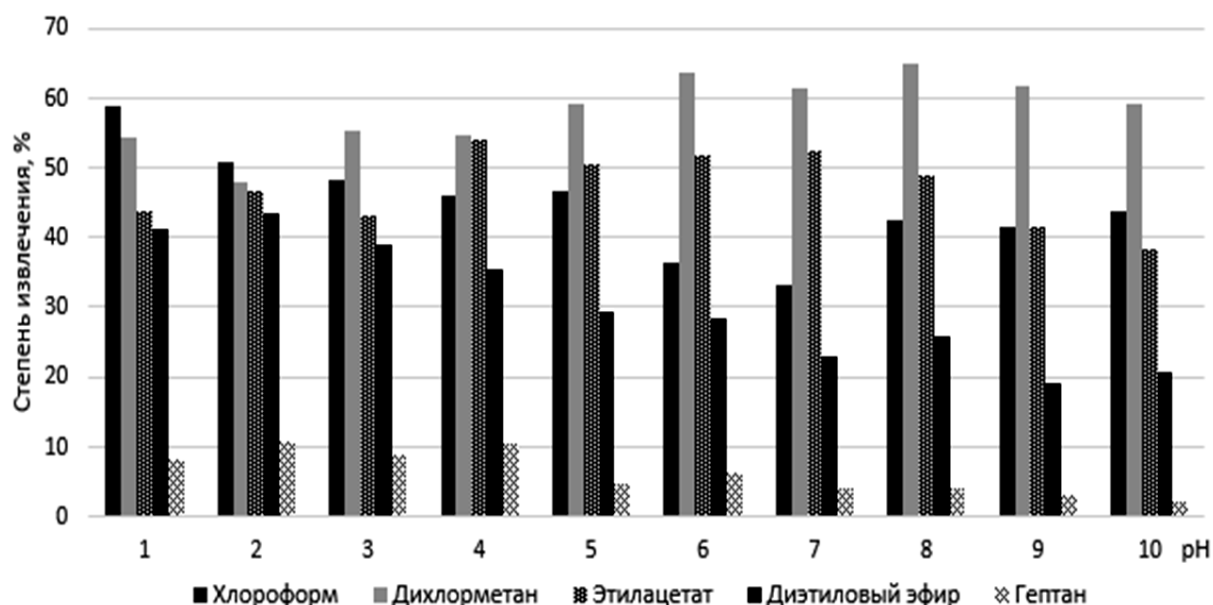


Рис. 2. Степень извлечения неврипина в зависимости от pH среды и природы органического растворителя

Таблица 1. Выход неврипина в присутствии различных электролитов при экстракции дихлорметаном

Электролит					
Натрия хлорида раствор 20%	Натрия хлорида раствор насыщенный	Натрия сульфата раствор 25%	Натрия сульфата раствор насыщенный	Аммония сульфата раствор 20%	Аммония сульфата раствор насыщенный
Степень извлечения, %					
64,0	66,5	62,1	56,4	41,0	42,1
63,2	67,0	62,7	56,7	42,5	42,4
62,0	64,3	62,8	58,1	41,7	41,9
$\bar{x} = 65,38\%$ ; $Sx = 0,58$ ; $\Delta X = 1,6$ ; $\bar{E}\% = 2,4\%$	$\bar{x} = 65,9\%$ ; $Sx = 0,82$ ; $\Delta X = 1,5$ ; $\bar{E}\% = 2,3\%$	$\bar{x} = 62,5\%$ ; $Sx = 0,22$ ; $\Delta X = 0,94$ ; $\bar{E}\% = 1,5\%$	$\bar{x} = 57,1\%$ ; $Sx = 0,50$ ; $\Delta X = 1,3$ ; $\bar{E}\% = 2,3\%$	$\bar{x} = 41,7\%$ ; $Sx = 0,63$ ; $\Delta X = 1,4$ ; $\bar{E}\% = 2,3\%$	$\bar{x} = 42,1\%$ ; $Sx = 0,67$ ; $\Delta X = 1,2$ ; $\bar{E}\% = 2,8\%$

Дальнейшим этапом экспериментальных исследований являлось исследование влияния времени и кратности на степень экстракции неврипина (табл. 2 и 3).

Таблица 2. Определение степени извлечения неврипина в зависимости от времени экстракции

Время, мин.			
1	2	3	4
Степень извлечения, %			
68,35	73,20	88,0	88,37
68,01	73,90	87,44	87,61
68,57	74,05	87,76	87,30
$\bar{x} = 68,3\%$ ; $Sx = 0,15$ ; $\Delta X = 0,7$ ; $\bar{E}\% = 0,9\%$	$\bar{x} = 73,7\%$ ; $Sx = 0,33$ ; $\Delta X = 1,4$ ; $\bar{E}\% = 1,9\%$	$\bar{x} = 87,7\%$ ; $Sx = 0,16$ ; $\Delta X = 1,7$ ; $\bar{E}\% = 1,9\%$	$\bar{x} = 87,7\%$ ; $Sx = 0,61$ ; $\Delta X = 1,5$ ; $\bar{E}\% = 1,7\%$

Из представленных данных видно, что увеличение времени экстракции до 3 мин. привело к изменению степени экстракции неврипина до  $87,7 \pm 1,9\%$ .

Таблица 3. Определение степени извлечения невирапина в зависимости от кратности экстракции (время экстракции 3 мин.)

Кратность экстракции		
однократная	двукратная	трёхкратная
Степень экстракции, %		
88,0	88,61	88,49
87,44	88,02	88,11
87,76	87,94	88,09
$\bar{x} = 87,7\%$ ; $S\bar{x} = 0,16$ ; $\Delta X = 1,7$ ; $\bar{E}\% = 1,9\%$	$\bar{x} = 88,2\%$ ; $S\bar{x} = 0,21$ ; $\Delta X = 0,9$ ; $\bar{E}\% = 1,2\%$	$\bar{x} = 88,2\%$ ; $S\bar{x} = 0,18$ ; $\Delta X = 1,8$ ; $\bar{E}\% = 2,0\%$

Увеличение кратности экстракции не изменило степень экстракции невирапина. Условия изолирования невирапина из водных растворов применили для разработки методики изолирования невирапина из биологических объектов: моча, слюна и плазма крови.

Идентифицировали невирапин после изолирования из модельных образцов с использованием методов ТСХ и УФ-спектрофотометрии [12]. Значение  $R_f$  пятна извлечения невирапина из биологического материала соответствовало значению  $R_f$  стандартного образца свидетеля невирапина ( $0,43 \pm 0,01$ ). УФ-спектр стандартного образца невирапина в хлористоводородной кислоте 0,1 М характеризуется максимумом поглощения при длине волны  $313 \pm 1$  нм (рис. 1), что соответствует максимуму поглощения невирапина в извлечениях, полученных из биологических объектов.

Степень экстракции невирапина из мочи, слюны и плазмы крови оценивали методом УФ-спектрофотометрии. Статистически обработанные результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4. Степень извлечения невирапина из модельных образцов мочи, слюны и плазмы крови

Биологический объект	Метрологические характеристики, n = 10, P = 0,95%		
	0,2 г	0,4 г	0,6 г
Моча	$\bar{x} = 71,59\%$ ; $S\bar{x} = 0,53$ ; $\Delta X = 1,32$ ; $\varepsilon = 4,85\%$ ; CV=3,96%	$\bar{x} = 80,07\%$ ; $S\bar{x} = 0,17$ ; $\Delta X = 1,27$ ; $\varepsilon = 4,80\%$ ; CV=3,78%	$\bar{x} = 89,21\%$ ; $S\bar{x} = 0,14$ ; $\Delta X = 1,36$ ; $\varepsilon = 4,89\%$ ; CV=4,15%
Слюна	$\bar{x} = 65,38\%$ ; $S\bar{x} = 2,15$ ; $\Delta X = 5,47$ ; $\bar{E}\% = 4,37\%$ ; CV=3,98%	$\bar{x} = 68,40\%$ ; $S\bar{x} = 2,66$ ; $\Delta X = 6,71$ ; $\bar{E}\% = 4,81\%$ ; CV=4,15%	$\bar{x} = 68,74\%$ ; $S\bar{x} = 2,57$ ; $\Delta X = 1,43$ ; $\bar{E}\% = 4,63\%$ ; CV=3,33%
Плазма крови	$\bar{x} = 68,25\%$ ; $S\bar{x} = 0,04$ ; $\Delta X = 1,36$ ; $\varepsilon = 4,89\%$ ; CV=4,41%	$\bar{x} = 71,18\%$ ; $S\bar{x} = 0,09$ ; $\Delta X = 1,39$ ; $\varepsilon = 4,92\%$ ; CV=3,16%	$\bar{x} = 76,55\%$ ; $S\bar{x} = 0,05$ ; $\Delta X = 1,43$ ; $\varepsilon = 4,96\%$ ; CV=4,55%

Из табл. 4 видно, что с использованием разработанной методики из модельных образцов мочи, слюны и плазмы крови изолируется достаточное количество невирапина для установления факта отравления. Валидационная оценка разработанной методики показала её пригодность для химико-токсикологического анализа. Относительное стандартное отклонение (RSD, %) при оценке сходимости и внутрилабораторной воспроизводимости не превышала 4,6% для мочи; 4,8% для слюны; 4,9% для плазмы крови.

## Выводы

1. Разработаны методики идентификации и количественного определения невирапина в извлечениях из мочи, слюны и плазмы крови методами ТСХ и УФ-спектрофотометрии. Подобраны условия изолирования невирапина (экстрагент – дихлорметан, pH 8, время – 3 мин., однократная экстракция) с использованием метода жидкость-жидкостной экстракции.
2. Разработаны методики изолирования невирапина из биологических объектов: мочи, слюны и плазмы крови с использованием метода жидкость-жидкостной экстракции ( $89,21 \pm 4,89\%$ ;  $68,74 \pm 4,63\%$ ;  $76,55 \pm 4,96\%$  соответственно).

3. Проведена валидационная оценка разработанных методик, которая свидетельствует о пригодности предложенных методик для химико-токсикологического анализа. Относительное стандартное отклонение (RSD, %) при оценке сходимости и внутрилабораторной воспроизводимости не превышала 4,6% для мочи; 4,8% для слюны; 4,9% для плазмы крови.

## Литература (references)

1. Вергейчик Т.Х. Токсикологическая химия: учебник. – М.: МЕДпрессинформ, 2012. – 432 с. [Vergeichik T.H. *Toksikologicheskaya chimia: uchebnik*. Toxicological chemistry: textbook. – Moscow: MEDpressinform, 2012. – 432 p. (in Russian)]
2. Гончикова Ю.А. Совершенствование методов анализа антиретровирусных лекарственных средств: дис. ... к-та фарм. наук. – Улан-Удэ: Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, 2018. – 188 с. [Gonchikova Yu.A. *Sovershenstvovaniye metodov analiza antiretrovirusnykh lekarstvennykh sredstv (doctoral dis.)*. Improvement of methods of analysis of antiretroviral drugs (Doctoral Thesis. – Ulan-Ude: Institute of General and Experimental Biology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2018. – 188 p. (in Russian)]
3. Илларионова Е.А. Совершенствование спектрофотометрического и хроматографического методов анализа азотсодержащих лекарственных средств: дис. ...д-ра хим. наук. – М.: Российский университет дружбы народов, 2004. – 379 с. [Illarionova E.A. *Sovershenstvovanie spektrofotometricheskogo i khromatograficheskogo metodov analiza azotsoderzhashchih lekarstvennykh sredstv (doctoral dis.)*. Improving spectrophotometric and chromatographic methods for the analysis of nitrogen-containing drugs (Doctoral Thesis). – Moscow: Peoples' friendship university of Russia, 2004. – 379 p. (in Russian)]
4. Илларионова Е.А., Чмелевская Н.В., Гончикова Ю.А. Химико-токсикологическое определение ламивудина в биологических объектах // Судебно-медицинская экспертиза. – 2020. – №1 (63). – С. 42-46. [Illarionova E.A., Chmelevskaya N.V., Gonchikova Yu.A. *Khimiko-toksikologicheskoye opredeleniye lamivudina v biologicheskikh ob"yektakh*. Chemical and toxicological determination of lamivudine in biological objects // Forensic-medical examination. – 2020. – N.1 (63). – P. 42-46. (in Russian)]
5. Илларионова Е.А., Чмелевская Н.В., Гончикова Ю.А., Скрипко А.А. Химико-токсикологический анализ зидовудина // Фармация. – 2019. – №7(68). – С. 16-20. [Illarionova E.A., Chmelevskaya N.V., Gonchikova Yu.A., Skripko A.A. *Khimiko-toksikologicheskii analiz zidovudina*. Chemical and toxicological analysis of zidovudine // Pharmacy. – 2019. – N.7(68). – P. 16-20. (in Russian)]
6. Костянян А.Е., Сафиулина А.М., Тананаев И.Г., Мясоедов Б.Ф. Многофазная экстракция // ДАН. 2005. – Т.404, №6. – С. 778-780. [Kostanyan A.E., Safiulina A.M., Tananaev I.G., Myasoedov B.F. DAN. – 2005 – V.404, N6. – P. 778-780. (in Russian)]
7. Кравченко А.В., Рафальский В.В. Антиретровирусные препараты // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2003. – Т.5, №4. – С. 360. [Kravchenko A.V., Rafal'skii V.V. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. – 2003. – V.5, N4. – P. 360. (in Russian)]
8. Онищенко Г.Г. ВИЧ-инфекция-проблема человечества // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2009. Т.1. №1. С. 5-9. [Onishchenko G.G. *VICH-infektsiya i immunosupressii*. HIV infection and immunosuppression. – 2009. – V.1., N1. – P. 5-9. (in Russian)]
9. ОФС.1.1.0013.15 Статистическая обработка результатов химического эксперимента // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XIII изд. – Москва, 2015. – Т.1. – С. 235-265. – URL: <http://www.femb.ru/feml> [Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. – XIII edition. – Moscow, 2015. – V.1. – P. 235-265. – URL: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian)]
10. Раменская Г.В. Фармацевтическая химия: учебник. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 258 с. [Ramenskaya G.V. *Pharmaceuticheskaya chimia: uchebnik*. Pharmaceutical chemistry: textbook. – М.: BINOM. Knowledge lab, 2015. – 258 p. (in Russian)]
11. Степанова Е.В. Побочные эффекты и оптимизация высокоактивной антиретровирусной терапии по материалам Санкт-Петербургского Центра СПИД / Е.В. Степанова, Н.Г. Захарова, С.Э. Торопов // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2010. – Т.2, №3. – С. 101-108. [Stepanova, Ye.V. Pobochnyye efekty i optimizatsiya vysokoaktivnoy antiretrovirusnoy terapii po materialam Sankt-Peterburgskogo Tsentra SPID. Stepanova, E.V. Side effects and optimization of highly active antiretroviral therapy based on materials from the St. Petersburg AIDS Center / E.V. Stepanova, N.G. Zakharova, S.E. Toropov // HIV infection and immunosuppression. – 2010. – V.2, N3. – P. 101-108. (in Russian)]

12. Харкевич Д.А. Фармакология: учебник. 10-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 908 с. [Kharkevich D.A. *Farmakologiya: uchebnik*. Pharmacology: textbook. 10th ed. – Moscow: GEOTAR-Media, 2010. – 908 p. (in Russian)]
13. Fell A.F. Analysis of pharmaceutical dosage forms by second derivative ultraviolet-visible spectrophotometry // Proc. analyt. div. chem. soc. – 1978. – V.15, N9. – P. 260-267.
14. Nagulwar V.P. A validated UV spectrophotometric method for the simultaneous estimation of Lamivudine, Nevirapine and zidovudine in combined tablet dosage // Journal of Pharmacy Research. – 2009. – V.2, N4. – P. 666-669.

### **Информация об авторах**

*Илларионова Елена Анатольевна* – доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: illelena24@mail.ru

*Гончикова Юлия Анатольевна* – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: gonchikova1984@mail.ru

*Костенко Елена Сергеевна* – студентка фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: elena\_kostenko\_99@mail.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.