

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Директор Иркутской государственной  
медицинской академии  
последипломного образования -  
филиала Федерального  
государственного бюджетного  
образовательного учреждения  
дополнительного профессионального  
образования «Российская медицинская  
академия непрерывного  
профессионального образования»  
МЗ РФ,  
д.м.н., профессор В.В. Шпрах

" 15 " ноября 2018 г.

**ОТЗЫВ**

*ведущей организации на диссертационную работу Гончиковой Юлии Анатольевны «Совершенствование методов анализа антиретровирусных лекарственных средств», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук в Диссертационный совет Д 999.140.03 при ФГБУН "Институт общей и экспериментальной биологии" Сибирского отделения Российской академии наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.*

**Актуальность выполненного исследования**

ВИЧ – самое тяжелейшее хроническое заболевание; представляет огромную угрозу для существования человечества.

Антиретровирусная терапия направлена на замедление репродукции вируса, позволяя снизить количество вируса в крови до минимальных цифр, уменьшить вероятность развития оппортунистических заболеваний и позволяя иммунитету восстанавливаться в достаточной степени. Наиболее широкое распространение в схемах лечения ВИЧ-инфекции занимают нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ – абакавир, ламивудин и зидовудин.

Анализ нормативной документации, а также литературных источников, проведенный диссидентом, показал, что для количественного определения веществ исследуемой группы препаратов чаще всего используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Данный метод дает возможность разделить исследуемые вещества и определить их количественное содержание, однако он характеризуется рядом недостатков: высокая стоимость оборудования, хроматографических колонок, стандартных образцов производства USP.

Пожизненная терапия антиретровирусными препаратами предполагает их совместное применение с препаратами из других фармакологических групп. Многие лекарственные средства имеют побочные эффекты, а при сочетанном употреблении, увеличении доз, необоснованном их применении эти эффекты могут усиливаться в несколько раз, и, как следствие, возрастает риск отравления. Химико-токсикологический анализ веществ данной группы как при монотерапии, так и в комбинациях с другими лекарственными средствами не отражен в литературных источниках.

Таким образом, актуальность данного исследования, посвященного совершенствованию методов стандартизации и химико-токсикологического анализа антиретровирусных лекарственных средств абакавира, ламивудина и зидовудина, не вызывает сомнений.

### **Научная новизна исследования и полученные результаты**

Гончиковой Ю.А. научно доказаны и определены в ходе эксперимента наиболее оптимальные параметры спектрофотометрического анализа абакавира, ламивудина и зидовудина в субстанциях и таблетированных лекарственных формах с использованием оптических образцов сравнения, которые позволили повысить воспроизводимость и точность анализа. Впервые предложена методика количественного определения зидовудина и ламивудина в таблетках «Дизаверокс» с использованием производной спектрофотометрии.

Автором обоснованы унифицированные условия количественного определения антиретровирусных лекарственных средств в таблетированных лекарственных формах и в комбинациях с другими лекарственными веществами в извлечениях из мочи методом высокоеффективной жидкостной хроматографии с использованием отечественного микроколоночного жидкостного хроматографа с УФ-детектором.

Диссертантом определено воздействие основных параметров, влияющих на экстракцию абакавира, ламивудина и зидовудина из модельных образцов мочи с использованием жидкость - жидкостной экстракции. Установлено, что оптимальным растворителем для экстракции абакавира является трихлорметан, а в качестве высаливающего компонента рекомендован аммония сульфат насыщенный. Для выделения ламивудина предложен этилацетат, а в качестве высаливающего компонента – аммония сульфат 20 %. Зидовудин изолировали дихлорметаном при pH 8, трехкратно; в качестве высаливающего компонента рекомендован аммония сульфат 20%.

Аргументирован выбор оптимальной системы растворителей этилацетат-трихлорметан-аммиака раствор концентрированный 25% (17:4:1) для идентификации абакавира, ламивудина и зидовудина в сочетании с мебикаром, клозапином, метамизолом натрия, амитриптилином, галоперидолом, имипразином, перициазином, фенобарбиталом, флюоксетином и хлорпротиксеном в извлечениях из мочи методом тонкослойной хроматографии.

### **Практическая значимость**

По результатам исследований разработаны и предложены: 12 методик количественного определения абакавира, ламивудина и зидовудина в субстанциях и лекарственных формах спектрофотометрическим методом с использованием в качестве оптических образцов сравнения калия бихромата, бензойной кислоты, сульфосалициловой кислоты, калия гексацианоферрата, 4,4'-диоксифталофенона; 3 методики количественного определения

абакавира, ламивудина и зидовудина в лекарственных формах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии; 3 методики изолирования абакавира, ламивудина и зидовудина из модельных смесей мочи с помощью жидкость-жидкостной экстракции; методики качественного определения комбинированных сочетаний абакавира, ламивудина и зидовудина с мебикаром, клозапином, метамизолом натрия, амитриптилином, галоперидолом, имипразином, перициазином, фенобарбиталом, флюоксетином и хлорпротиксеном в извлечениях из мочи методами тонкослойной и высокоэффективной хроматографии.

Разработанные методики апробированы и внедрены в практику работы ОКК АО «Фармасинтез» (г. Иркутск), ГБУЗ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы» республики Бурятия (г. Улан-Удэ), судебно-химического отделения ГБУЗ «Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы» (г. Иркутск), в учебный процесс кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. Получено 26 актов аprobации и внедрения результатов данной работы. Получены два патента РФ на изобретения «Способ определения и обнаружения в моче антиретровирусных лекарственных средств в комбинированных сочетаниях» и «Способ определения абакавира». Предложены проекты изменения ФСП на указанные лекарственные средства.

### **Структура и оформление диссертации**

Структура, последовательность изложения работы и содержание глав соответствуют общей цели и задачам диссертационного исследования. Диссертационная работа изложена на 188 страницах компьютерного текста. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), 3 глав экспериментальной части, общих выводов; иллюстрирована 58 таблицами, 43 рисунками. Список литературы включает 148 источников, из них - 96

отечественных и 52 - зарубежных. В приложениях представлены материалы по внедрению и апробации разработанных методик.

**Во введении** обоснована актуальность и степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи исследования, отмечены научная новизна, теоретическая и практическая значимость данной работы, а также основные положения, выносимые на защиту.

**Первая глава** (обзор литературы) представляет собой критический обзор отечественной и зарубежной литературы, нормативных документов, касающихся использования химических и физико-химических методов для количественного определения абакавира, ламивудина и зидовудина в субстанциях и лекарственных формах, а также методы обнаружения абакавира, ламивудина, зидовудина и других лекарственных средств в биологических объектах при химико-токсикологических исследованиях. Диссертантом сделан вывод, что анализ исследуемой группы препаратов в субстанциях, лекарственных формах и биологическом материале в ходе фармацевтического и химико - токсикологического анализа требует разработки новых и совершенствования существующих методик. На основании критического обзора научной литературы автором сформулирована общая концепция работы.

В целом, в обзоре литературы диссидентом использовались современные литературные источники по всему кругу выбранного научного исследования.

**Во второй главе** приведены объекты и методы исследований, используемые в диссертации. В работе использован комплекс современных аналитических и математических методов: УФ - спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, электрохимические (рН-метрия) методы, компьютерное программное обеспечение «Мультихром» и статистические методы обработки экспериментальных данных.

*В третьей главе* обоснованы условия спектрофотометрического определения производных антиретровирусных лекарственных средств – абакавира, ламивудина, зидовудина, выбраны оптимальные внешние (оптические) образцы сравнения (бензойная кислота, сульфосалициловая кислота, калия бихромат, калия гексацианоферрат, 4,4'-диоксифталофенон) и разработаны методики количественного определения их в субстанциях и лекарственных формах. Относительная ошибка определения не превышает 1,79% – для таблеток, 0,99% – для субстанций.

Обоснованы условия количественного определения исследуемой группы веществ в лекарственных формах методом высокоеффективной жидкостной хроматографии с использованием отечественного микроколоночного жидкостного хроматографа «Милихром А-02».

Разработана методика количественного определения зидовудина и ламивудина в таблетках «Дизаверокс» методами производной спектрофотометрии и высокоеффективной жидкостной хроматографии.

Представлены результаты валидационной оценки разработанных методик.

*Четвертая глава* посвящена изучению влияния основных факторов на экстракцию абакавира, ламивудина и зидовудина из растворов.

Разработаны методики изолирования абакавира, ламивудина и зидовудина из модельной смеси мочи с использованием жидкость - жидкостной экстракции.

*В пятой главе* установлены оптимальные хроматографические системы растворителей для идентификации исследуемых веществ в сочетании с другими лекарственными средствами. Определены условия разделения и обнаружения абакавира, ламивудина, зидовудина в сочетании с другими лекарственными средствами методом хроматографии в тонком слое сорбента в извлечениях из модельных образцов мочи. Обоснованы условия хроматографического разделения и разработаны методики идентификации комбинированных сочетаний абакавира, ламивудина и зидовудина с другими

лекарственными средствами в извлечениях из модельных образцов мочи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Испытания проводили на отечественном микроколоночном хроматографе «Милихром А-02» с использованием хроматографической колонки ProntoSIL 120-5C18AQ с размером сорбента 5 мкм и обращенной фазой. Предложена система, состоящая из двух элюентов: 1 – 0,2 М лития перхлорат и 0,005 М хлорная кислота 5:95 (рН 2,8) и 2 – ацетонитрил 3700 мкл с линейным увеличением доли ацетонитрила от 5 до 70% мкл. Погрешность определения составила не более 0,15%.

Диссертационная работа завершается общими выводами, в которых обобщены основные результаты исследования.

#### **Степень обоснованности и достоверности заключений и выводов, сформулированных в диссертации**

Приведенные диссидентом выводы достоверны и обоснованы обширным экспериментальным материалом с привлечением современных методов исследований и адекватными приемами статистической обработки полученных результатов; полностью отвечают цели и задачам исследования.

Апробация работы выполнена в виде докладов на конференциях различного уровня, по результатам диссертационной работы опубликовано 21 работа, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, получено 2 Патента РФ на изобретения.

#### **Вопросы и замечания**

В целом, диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, представленный материал изложен последовательно, логично и грамотно.

В процессе ознакомления с работой возникли некоторые замечания и требующие пояснения вопросы:

1. Желательно в обзор литературы включить сведения по химико-токсикологическому исследованию лекарственных веществ, встречающихся при комбинированных отравлениях с антиретровирусными лекарственными средствами.

2. Какую роль играет лития перхлорат в предложенной системе растворителей для методики с использованием высокоеффективной жидкостной хроматографии?

3. Имеются ли в литературе сведения по метаболизму исследуемых препаратов и будут ли эти метаболиты оказывать влияние на результат изолирования в случае их присутствия в биологическом материале?

4. Почему исследования по изолированию первоначально проводились из водных растворов абакавира, ламивудина и зидовудина?

Указанные замечания и предложения не носят принципиального характера и не снижают теоретическую и практическую значимость выполненной диссертационной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Гончиковой Ю.А. "Совершенствование методов анализа антиретровирусных лекарственных средств" является самостоятельно выполненной и законченной научно-квалификационной работой, в которой разработаны и предложены спектрофотометрические и хроматографические методы анализа указанной группы препаратов, имеющие преимущество по сравнению с методами, представленными в нормативных документах.

В целом, диссертационная работа Гончиковой Ю.А. по актуальности, объёму исследований, научно-методическому уровню, теоретической и практической значимости соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г.), а ее автор Гончикова Юлия

Анатольевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Отзыв на диссертационную работу обсужден на заседании кафедры фармации Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ (Протокол № 6 от "15" ноября 2018 г.)

Зав. кафедрой фармации  
Иркутской государственной медицинской  
академии последипломного образования –  
филиала ФГБОУ ДПО  
«Российская медицинская академия  
непрерывного профессионального  
образования» МЗ РФ,  
д.фарм.н., профессор

(шифр специальности: 15.00.01 – технология лекарств и организация фармацевтического дела)

664049, Россия, г. Иркутск  
м/р Юбилейный д. 100  
тел: 8(3952)46-53-26  
E-mail: irkmapo@irk.ru  
htth://igmapo.ru



ЗАВЕРЯЮ

Нач. отдела кадров

Подпись Галины Николаевны Ковальской

С. Е. Григорьев

С. Е. Григорьев