

УДК 616-08-07+616.9

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОГО МЕТАБОЛИТА 3'-АЗИДО-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИНА (АЗИДОТИМИДИНА) В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПУТЕМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

^{1,2}З.Н.Лисицина, ³Л.Н.Петрова, ^{1,2,3}Н.А.Беляков, ⁴М.М.Прибытковский, ⁴А.Р.Симонян

¹Санкт-Петербургский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Россия

²Первый Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. академика И.П.Павлова, Россия

³Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

⁴ЗАО «Производственно-коммерческая Ассоциация АЗТ», Москва, Россия

A METHOD FOR THE DETERMINATION OF THE ACTIVE METABOLITE OF 3'-AZIDO-3'-DEOXYTHYMIDINE, AZIDOTHYMIDINE, IN BLOOD PLASMA BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

^{1,3}Z.N.Lisitsyna, ³L.N.Petrova, ^{1,2,3}N.A.Belyakov, ⁴M.M.Pribytkovskiy, ⁴A.R.Simonian

¹Saint-Petersburg Center for Control of AIDS and Infectious Diseases, Russia

²First Pavlov State Medical University of Saint-Petersburg, Russia

³Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

⁴ZAO Association AZT, Moscow, Russia

© Коллектив авторов, 2015 г.

Отработана методика определения активного метаболита — 3'-азидо-3'-дезокситимидина в плазме крови больных с ВИЧ-инфекцией методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Описаны этапы технологической цепочки с учетом валидности, специфичности, прецизионности и воспроизводимости метода. Методика апробирована и использована в клинических испытаниях нового препарата 6НР. При однократном и двукратном приеме препарата в дозе от 1,2 до 2 г в сутки у 75 пациентов индивидуальные колебания составили от 2,5 до 15 нг/мл, средняя концентрация независимо от дозы $6,5 \pm 1,4$ ($n=750$), при однократном $5,34 \pm 0,6$ ($n=450$), при двукратном $8,36 \pm 1,3$ ($n=300$). Данная методика может быть использована для коррекции и индивидуализации при проведении противовирусной терапии с использованием зидовудина или фосфазида, а также при дальнейшем клиническом изучении препарата 6НР.

Ключевые слова: активный метаболит, фосфазид, ВИЧ-инфекция.

A high performance liquid chromatography method for the determination of the active metabolite of 3'-azido-3'-deoxythymidine in blood plasma is developed. Its performance characteristics, including validity, specificity, precision and reproducibility, are presented. The method is validated and used in clinical trials of the novel drug 6HP. Upon taking the drug once or twice daily at daily doses ranging from 1,2 to 2,0 g by 75 patients, individual variations of the analyte were 2,5 to 15,0 ng/mL, and the mean concentrations were, irrespective of drug dosage, $6,5 \pm 1,4$ ($n=750$); $5,34 \pm 0,6$ ($n=450$) upon a single daily intake and $8,36 \pm 1,30$ ($n=300$) upon two daily intakes. The method may be used for the adjustment and individualization of antiviral therapy using Zidovudine or phosphazide and for the further clinical appraisal of 6HP.

Key words: active metabolite, phosphazide, HIV infection.

Введение. Важное место в оценке эффективности лечения ВИЧ-инфекции занимает определение концентрации противовирусных препаратов в плазме крови, что дает возможность подобрать дозу и режим (кратность приема) терапии в зависимости от свойств антиретровирусных препаратов (АРВП). Одной из основных причин возникновения фармако-резистентности ВИЧ является резкое изменение концентрации АРВП в крови пациентов от очень

высоких значений (вскоре после приема препарата) до очень низких концентраций, иногда до значений ниже, чем ингибирующая ВИЧ концентрация препарата (к моменту следующего приема) [1]. Именно в эти периоды низкой концентрации лекарственного средства в крови вирус возобновляет репликацию и становится резистентным к назначенному препарату, а лечение перестает быть эффективным [2].

На сегодняшний день нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ) ВИЧ являются обязательными компонентами высокоактивной АРВ терапии. Среди множества препаратов семейства НИОТ наиболее привлекательным на сегодняшний день является фосфазид (3'-азидо-3'-дезокситимидин-5'-фосфонат натрия). За более чем 15-летний опыт применения этого препарата была показана его низкая токсичность и хорошая переносимость по сравнению с другими препаратами НИОТ [3–5]. Фосфазид успешно применяют в различных схемах высокоактивной АРВ терапии [6–9], при терапии ВИЧ-инфекции в сочетании с лечением хронического гепатита С и туберкулеза [10–12], а также для профилактики передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку [13–18]. Кроме того, фосфазид применяют и для профилактики заражения ВИЧ-инфекцией медицинских работников [19]. Неслучайно в Протоколах диспансерного наблюдения и лечения больных с ВИЧ инфекцией фосфазид рекомендован в качестве препарата АРВ терапии первого ряда [20]. Хорошо показали себя различные сочетания фосфазида: с ламивудином и эфавирензом или ингибитором протеазы (атазанавиром или лопинавиром/ритонавиром) [4], с диданозином и невирапином [6], с диданозином и ритонавиром/саквинавиром [7] и др. Перечисленные схемы АРВ терапии оказались более эффективными при сопутствующих заболеваниях — анемиях, хронических гепатитах В и С [21], циррозе печени и туберкулезе [12], чем схемы, включающие зидовудин или комбивир.

При пероральном приеме фосфазид метаболизируется до 3'-азидо-3'-дезокситимидина (АЗТ), который под действием клеточных ферментов превращается в трифосфат АЗТ, и затем избирательно ингибирует репликацию вирусной ДНК за счет конкурентной блокады обратной транскриптазы. Это способствует блокированию воспроизведения вируса, что приводит к снижению концентрации ВИЧ в крови пациента [3, 21]. Таким образом, фосфазид является пролекарством азидотимидина (зидовудина). Однако фосфазид обладает существенно меньшей максимальной концентрацией АЗТ [22, 23], при этом время полувыведения для фосфазида почти в 4 раза больше по сравнению с зидовудином [24]. Отмеченное является основной причиной значительно меньшей токсичности фосфазида, по сравнению с зидовудином, что неоднократно подтверждалось в клинической практике.

В настоящее время ведутся клинические исследования нового препарата 6НР (аммоний 3'-азидо-3'-дезокситимидин-5'-карбомоилфосфонат), который также относится к препаратам НИОТ и близок

по химическому составу и механизму действия к зидовудину и фосфазиду, при этом основным метаболитом 6НР также является АЗТ (рис. 1) [22, 23, 25].

Таким образом, определение содержания АЗТ в плазме крови открывает перспективы оперативного контроля за лечением ВИЧ-инфицированных пациентов при проведении АРВ терапии с использованием фосфазида или зидовудина, а также дальнейшего клинического изучения 6НР.

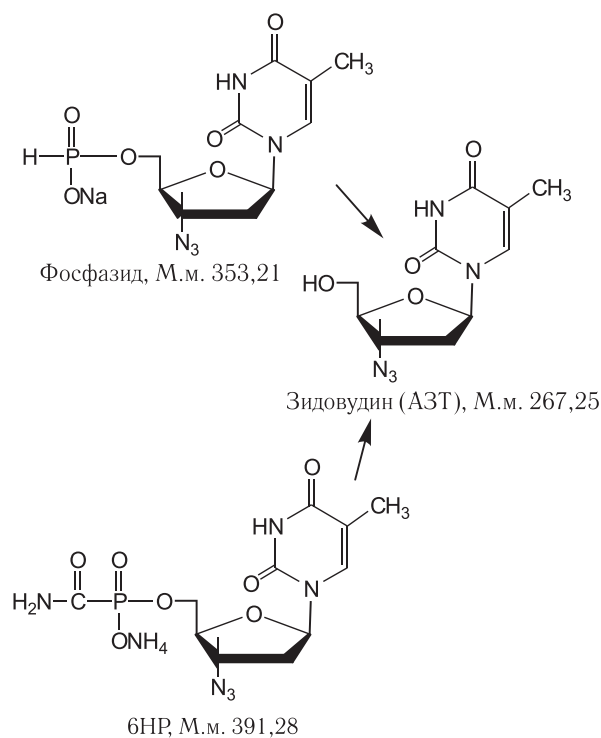


Рис. 1. Препараты НИОТ: фосфазид, 6НР и зидовудин (АЗТ).

Для терапевтического лекарственного мониторинга используют различные методы исследования в биологических жидкостях: иммунологические, микробиологические, спектрофотометрические, радиоизотопные и другие. Каждый из перечисленных методов имеет свои особенности, достоинства и недостатки. Главным для всех методов является точность, чувствительность и воспроизводимость [26].

В последние годы одним из самых мощных аналитических средств качественного и количественного определения концентраций лекарственных веществ и их метаболитов в биологических жидкостях стал метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В нашей стране этот метод практически не используется или применяется лишь для некоторых этапов оценки АРВП, что ограничивает клинические возможности подбора схем лечения. Следует отметить, что и в зарубежных клиниках такого же рода исследования ограничены начальными стадиями изучения АРВП [2].

Основной целью нашей работы являлось освоение новой технологии химического анализа плазмы крови с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для количественного определения концентрации АЗТ.

Материалы и методы исследования. *Оборудование для хроматографирования.* Хроматографическое разделение проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы Shimadzu LC-20 Prominence. В состав прибора входили: насос LC-20AD; блок градиента низкого давления LPGE Unit; системный контроллер CBM-20A lite; дегазатор DGU-20A(3)R; термостат колонок CTO-20A; детектор диодно-матричный SPD-M20A; устройство ручного ввода пробы; дозирующая петля объемом 100 мкл; 6 портовый двухходовой кран для перенаправления потока; колонка для ВЭЖХ Reprosil Pur ODS-3 150×4,6 мм, 5 мкм (далее — «аналитическая колонка»); предколонка для ВЭЖХ Reprosil Pur 10,0×4,0 мм, 5 мкм (далее — «предколонка»); программный пакет LCsolution v1.25.

Оборудование для пробоподготовки: электронные весы с точностью взвешивания 0,01 мг; мерные колбы емкостью 1000,0, 100,0 и 5,0 мл; мерные пипетки стеклянные объемом 10,0 и 1,0 мл; микрошприцы объемом 1000, 500, 100, 10,0 и 1,0 мкл; центрифуга лабораторная MiniSpin (Eppendorf); микропробирки для центрифуги; шприцы медицинские одноразовые двухкомпонентные объемом 2,0 мл.

Реактивы и растворы: Зидовудин (АЗТ) стандартный образец (British Pharmacopeia); плазма контрольная (ТУ 9398–026–05595541–2009); карбинол (Sigma-Aldrich, HPLC grade); бидистиллированная вода; хромовая смесь для мытья посуды.

Реализация методики и результаты. *Пробоподготовка.* Образцы исследуемой плазмы хранили в морозильной камере при температуре от –20 до –25°С.

Контрольный раствор. При помощи микрошприца емкостью 1000 мкл, в предварительно нагретый до комнатной температуры флакон с контрольной плазмой, прибавляли 1000 мкл бидистиллированной воды. Содержимое флакона перемешивали без встряхивания до достижения гомогенности и использовали через 20–30 мин.

Калибровочные растворы. 50,0 мг стандартного образца АЗТ помещали в мерную колбу емкостью 100,0 мл, прибавляли около 10–15 мл бидистиллированной воды и перемешивали содержимое колбы до полного растворения кристаллов. Объем раствора доводили до метки бидистиллированной водой и тщательно перемешивали (раствор А).

При помощи мерной стеклянной пипетки аликвоту 1,0 мл раствора А переносили в мерную колбу емкостью 100,0 мл, доводили объем содержимого колбы до метки бидистиллированной водой и тщательно перемешивали (раствор Б).

При помощи мерной стеклянной пипетки аликвоту 10,0 мл раствора Б переносили в мерную колбу емкостью 100,0 мл доводили объем содержимого колбы до метки бидистиллированной водой и тщательно перемешивали (раствор В).

При помощи микрошприца емкостью 1000 мкл в 7 предварительно нагретых до комнатной температуры флаконов с плазмой контрольной прибавляли 800–990 мкл ($V_{\text{бидист}}$) бидистиллированной воды. Содержимое флаконов перемешивали без встряхивания до достижения гомогенности и через 20–30 мин при помощи микрошприца емкостью 100 мкл прибавляли 10–200 мкл ($V_{\text{В}}$) раствора В. Содержимое флакона вновь перемешивали без встряхивания (растворы Г1–Г7). Состав и концентрация растворов Г1–Г7 приведены в таблице 1. Срок годности приготовленных растворов Г один день.

Таблица 1
Приготовление растворов Г1–Г7

Раствор	$V_{\text{бидист}}$, мкл	$V_{\text{В}}$, мкл	Концентрация АЗТ, нг/мл
Г1	990	10	5
Г2	980	20	10
Г3	960	40	20
Г4	920	80	40
Г5	880	120	60
Г6	840	160	80
Г7	800	200	100

При помощи микрошприца емкостью 500 мкл аликвоты 500 мкл растворов Г1–Г7 переносили в мерные колбы емкостью 5,0 мл и доводили объем растворов до метки бидистиллированной водой, после чего тщательно перемешивали (калибровочные растворы КР1–Р7). Калибровочные растворы готовили из растворов Г1–Г7 непосредственно перед хроматографированием.

Испытуемые растворы. Перед проведением исследований испытуемую плазму размораживали при комнатной температуре. Один мл плазмы помещали в микропробирку и центрифугировали 2 мин при скорости 3000 об/мин.

При помощи микрошприца емкостью 500 мкл аликвоту 500 мкл супернатанта переносили в мерную колбу емкостью 5,0 мл и доводили объем раствора до метки бидистиллированной водой. После чего тщательно перемешивали. Испытуемые рас-

творы готовили из анализируемой плазмы непосредственно перед хроматографированием.

Хроматографирование. Подготовка ВЭЖХ-системы. Температуру термостата колонки устанавливали на уровне 38° С. Длина волны детектирования 265 нм. В держатель установили колонку и новую предколонку, после чего при конфигурации колонок «Предколонка» кондиционировали ее карбинолом (100%) не менее 10 мин при скорости потока 2,0 мл/мин. При конфигурации колонок «Предколонка + аналитическая колонка» кондиционировали систему подвижной фазой: 30% карбинола — 70% бидистиллированной воды до регистрации ровной базовой линии не менее 20 мин. при скорости потока 1,0 мл/мин. Вводили программу элюирования согласно таблицы 2.

водой ровно 2,0 минуты. Затем вводили пробу поворотом крана инжектора в положение «Inject» и регистрировали хроматограмму. Время хроматографирования одной пробы 22 минуты, время удерживания АЗТ около 11,6 минут. По окончании хроматографирования перевели ручной инжектор в положение «Load», после чего перешли к хроматографированию следующего раствора [27].

Калибровка и проверка приемлемости аналитического цикла. Следуя описанному алгоритму, регистрировали хроматограммы контрольного и калибровочных растворов (КР1–КР7). Интегрировали аналитический сигнал АЗТ (время удерживания ~11,6 мин) и определяли величину его площади (рис. 2).

Поскольку коэффициент корреляции, рассчитанный по результатам хроматографирования калибро-

Таблица 2

Программа элюирования

Время, мин	Состав подвижной фазы, %		Конфигурация колонок	Скорость подвижной фазы, мл/мин
	Бидистиллированная вода	Карбинол		
0–2,0	100	0	Предколонка	2,0
2,0–22	70	30	Предколонка + аналитическая колонка	1,0

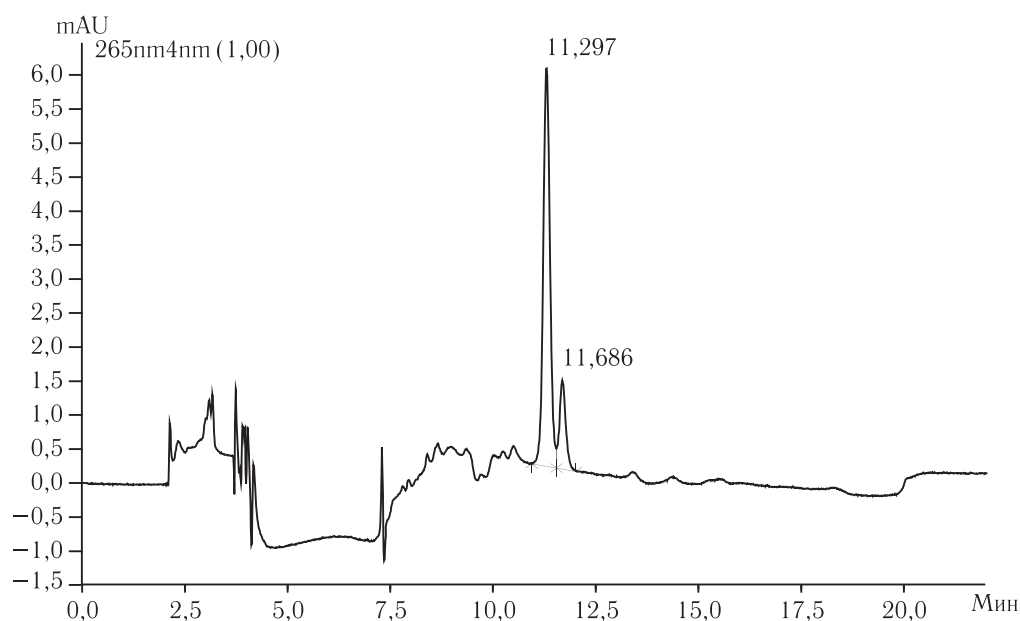


Рис. 2. Типичная хроматограмма калибровочного раствора.

В положении ручного инжектора «Load» промывали дозирующую петлю не менее 5 мл бидистиллированной воды. При помощи одноразового двухкомпонентного пластикового шприца емкостью 2,0 мл заполняли петлю инжектора раствором, подлежащим хроматографированию.

При конфигурации колонок «Предколонка» кондиционировали предколонку бидистиллированной

водных растворов, составил 0,997, что больше, чем 0,995 (критерий приемлемости), то калибровочный график являлся линейным и пригодным для использования его при выполнении анализов по методу внешнего стандарта.

Пригодность хроматографической системы определяли по результатам анализа трех последовательных вводов калибровочного раствора КР1. Относительное

стандартное отклонение площадей пиков АЗТ не превысило 3%, что дало возможность перейти к хроматографированию испытуемых растворов.

Валидационные параметры. Согласно современным рекомендациям ИСН и ведущих фармакопей методика количественного определения была валидирована по основным характеристикам, таким как специфичность (specificity), линейность (linearity), правильность (accuracy), прецизионность (precision) [27–29].

Специфичность. Примеси не должны препятствовать количественному определению основного вещества. Разрешение пика определяемого компонента с любым соседним пиком пробы должно быть более 1,5 [28].

Подтверждением специфичности метода при хроматографировании служит показатель разрешения пика (R_s), он характеризует способность системы разделить два компонента.

При проведении исследования установлено (рис. 3), что время удерживания АЗТ составляет

Оценку линейности зависимости аналитических сигналов от содержания АЗТ в плазме крови проводили на пяти уровнях концентрации, используя в качестве аналитического сигнала площади хроматографических пиков. Коэффициент корреляции для АЗТ, рассчитанный по экспериментальным данным составил более, чем 0,995 [27], а именно 0,997 (рис. 4). Полученный результат позволяет заключить, что площадь пика АЗТ линейно зависит от его концентрации в плазме и может быть использована в качестве аналитического сигнала при выполнении анализов с использованием метода внешнего стандарта [27].

Предел количественного определения. Относительное стандартное отклонение (S_r) для трех параллельных измерений площади пиков АЗТ должно быть не более 0,33.

Полученные данные позволили заключить, что принятому критерию отвечает пороговое содержание АЗТ 0,5 нг/мл ($S_r=0,32$). Таким образом, чувствительность методики вполне позволяет оцени-

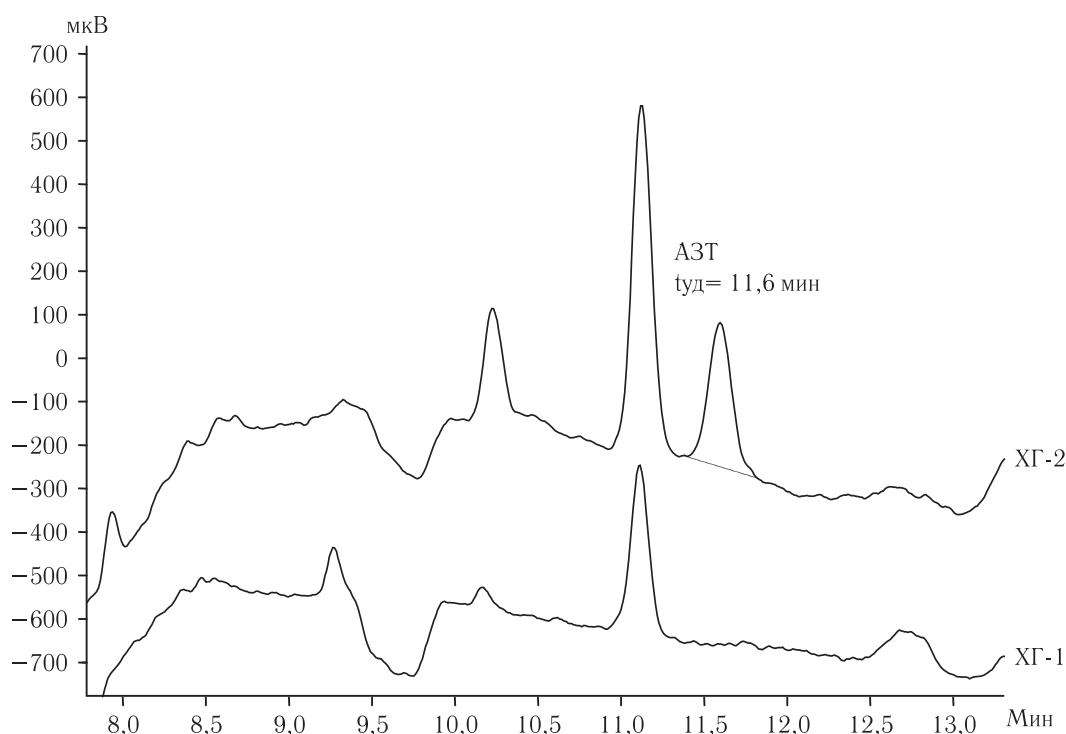


Рис. 3. Типичные хроматограммы испытуемой плазмы крови пациента: ХГ-1 — плазма пациента до приема АЗТ; ХГ-2 — плазма пациента, принимающего АЗТ.

~11,6 мин. На хроматограмме пик определяемого вещества хорошо отделен от пиков примесей, вспомогательных веществ и основы лекарственной формы. Коэффициент разрешения пика (R_s) анализируемого вещества составил более 1,5.

Линейность. Методика считается линейной, если коэффициент корреляции между рядом полученных значений будет не ниже 0,995.

вать концентрацию искомого соединения на уровнях значительно меньших, чем предполагаемые а priori в реальных образцах плазмы [27].

Правильность. Найденные содержания искомого вещества должны совпадать с количествами, введенными в модельные растворы плазмы. Показателем правильности метода обычно является значение систематической погрешности.

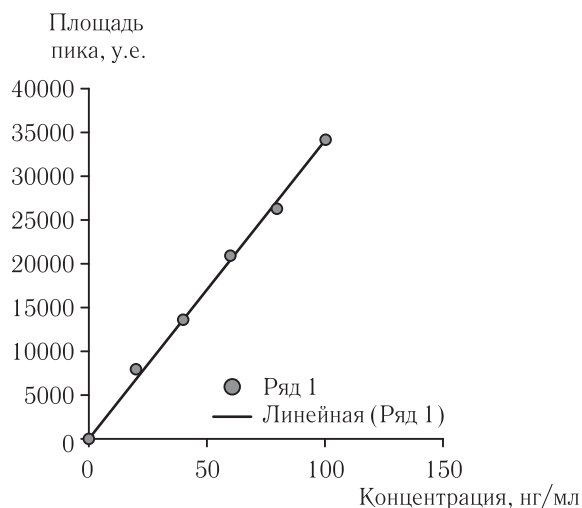


Рис. 4. Градуировочный график для определения содержания АЗТ в плазме.

Найденные концентрации АЗТ совпадают с искусственно введенными в модельную смесь количествами. Это позволяет исключить вероятность системати-

Она выражается величиной стандартного отклонения — коэффициентом вариации.

Экстремальные показатели прецизионности — сходимость и воспроизводимость [28].

Сходимость (повторяемость). Относительное стандартное отклонение для 10 измерений содержания АЗТ в модельных растворах плазмы должно быть не более 0,20 для концентраций 10 нг/мл и не более 0,10 для концентраций 100 нг/мл.

Экспериментально установлено, что методику характеризует удовлетворительная сходимость результатов (рис. 5). Величины относительного стандартного отклонения, рассчитанные по данным анализа модельных образцов плазмы, отвечают сформулированному критерию приемлемости (не более 0,20 и 0,10 для концентраций уровня 10 и 100 нг/мл соответственно) [27].

Внутрилабораторная воспроизводимость: Дисперсии и средние значения серий измерений содержания АЗТ в модельных растворах плазмы,

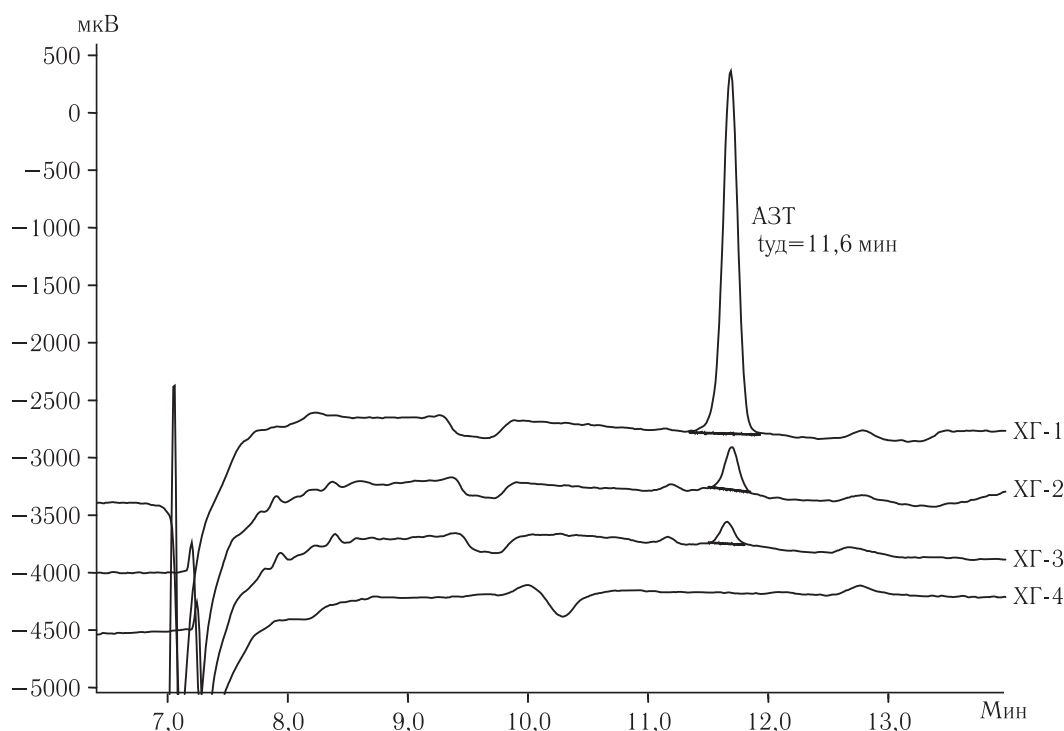


Рис. 5. Сравнительные хроматограммы модельных растворов АЗТ: ХГ-1 — водный раствор АЗТ с концентрацией 100 нг/мл; ХГ-2 — водный раствор АЗТ с концентрацией 10 нг/мл; ХГ-3 — водный раствор АЗТ с концентрацией 5 нг/мл; ХГ-4 — вода бидистиллированная.

ческой погрешности как вносимой во время анализа, так и обусловленной присутствием значительных количеств компонентов матрицы (плазмы крови) [27].

Прецизионность. Прецизионность аналитического метода характеризует степень близости независимых результатов индивидуальных испытаний, полученных в конкретных установленных условиях.

выполненных разными химиками, должны быть однородны. Относительное стандартное отклонение для объединенной выборки должно быть не более 0,15.

Анализ полученных экспериментальных данных показал что дисперсии и средние значения по сериям анализов, выполненных разными химиками однородны. Это позволяет рассматривать их как принадлежащие

к единым генеральным совокупностям. Относительные стандартные отклонения объединенных выборочных совокупностей не превышают порогового значения, выбранного в качестве критерия. Полученные данные дают достаточно оснований считать внутрилабораторную воспроизводимость результатов ВЭЖХ определения АЗТ в плазме крови приемлемой [27].

Методика была апробирована, а затем внедрена для определения концентрации 6НР в крови больных при приеме *per os* препарата в дозировках от 1,2 до 2,0 г в сутки. Индивидуальные колебания концентраций препарата в плазме крови у 75 пациентов регистрировались в диапазоне от ~2,5 до 15 нг/мл, средняя концентрация всего массива данных составила $6,54 \pm 1,4$ нг/мл ($n=750$). Выявлены достоверно различия при однократном и двукратном приеме препарата (соответственно $5,34 \pm 0,6$ ($n=450$) и $8,36 \pm 1,3$ ($n=300$)).

Методика определения АЗТ в плазме крови методом ВЭЖХ с применением УФ — детектирования показала высокую чувствительность, точность (правильность и прецизионность) и воспроизводимость.

При помощи данной методики были проанализированы пробы плазмы крови ВИЧ-инфицированных пациентов и определена концентрация АЗТ, а так же рассчитана минимальная равновесная концентрация АЗТ — основного метаболита 6НР. Полученные

данные о минимальной равновесной концентрации АЗТ в плазме крови участников исследования могут быть признаны достоверными и использованы для дальнейшей обработки и подбора оптимальных дозировок и кратности приема лекарственного препарата 6НР. В дальнейшем методику предполагается использовать для определения концентрации препарата у больных в процессе лечения как в крови, так и в других биологических жидкостях с целью оптимизации и индивидуализации антиретровирусной терапии в схемах лечения, включающих фосфазид или зидовудин. Действующая основа, определяющая лечебный эффект АЗТ, апробирована в различных клинических ситуациях, перечень которых при учете концентрации препарата в тканях, может быть расширен, в том числе при сочетанной патологии [11, 16, 30].

Заключение. Отработана методика определения АЗТ в плазме крови больных с ВИЧ-инфекцией путем высокоэффективной жидкостной хроматографии, которая показала специфичность, линейность, точность, повторяемость и воспроизводимость. Данная методика может быть использована для коррекции и индивидуализации при проведении противовирусной терапии с использованием зидовудина или фосфазид, а в дальнейшем и 6НР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Либман Г., Макадон Х.Дж. ВИЧ-инфекция / Пер. с англ. под ред. А.И.Мазуса, Т.П.Бессарабова. — М.: «ГЕОТАР — Медиа», 2012. — 560 с.
2. Бобкова М.Р. Лекарственная устойчивость ВИЧ. — М.: «Издательство человек», 2014. — 284 с.
3. Сизова Н.В., Губа З.В., Торопов С.Э., Захарова Н.Г., Рахманова А.Г. Фосфазид — отечественный препарат для лечения ВИЧ-инфекции. Второе рождение // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2012. — Т. 4, № 2. — С. 34–43.
4. Кравченко А.В., Канестри В.Г., Ганкина Н.Ю. Применение фосфазид в составе схем антиретровирусной терапии. // Инфекционные болезни. — 2011. — Т. 9. — № 4. — С. 64–69.
5. Мошкович Г.Ф., Минаева С.В. Исследование применения фосфазид в альтернативных схемах АРВТ у больных с ВИЧ-инфекцией // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2013. — Т. 5, № 4. — С.57–61.
6. Кравченко А.В., Саламов Г.Г., Богословская Е.В. Серебровская Л.В. Сергиенко О.Г., Покровский В.В. Трехкомпонентная комбинированная антиретровирусная терапия с применением ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2001. — №4. — С.32–35.
7. Кравченко, А.В., Ситдыкова Ю.Р., Серебровская Л.В., Богословская Е.В., Покровский В.В. Комбинированная антиретровирусная терапия больных ВИЧ-инфекцией с использованием «усиленных» ингибиторов протеазы ВИЧ // Инфекционные болезни. — 2003. — Т. 1. № 1. — С. 14–19.
8. Кравченко А.В. Применение Никавира в составе антиретровирусной терапии // Медицинская кафедра. — 2004. — №2 (10). — С. 90–92, 166–172.
9. Иванова Э.С., Воробьева Н.Н. Трехкомпонентная антиретровирусная терапия ВИЧ-инфекции с применением фосфазид // Материалы V Международной научной конференции «Онкология — XXI век. — Сполетто, Италия, 2010. — С. 170–174.
10. Ганкина Н.Ю., Кравченко А.В., Куимова У.И., Канестри В.Г. Нуклеозидные ингибиторы в схемах антиретровирусной терапии ко-инфекции ВИЧ и хронического гепатита С // Инфекционные болезни. — 2010. — Т. 8, № 1. — С. 14–18.
11. Кравченко А.В., Куимова У.А., Канестри В.Г., Ганкина Н.Ю., Серебровская Л.В. Применение препарата фосфазид в схемах АРВТ у больных ВИЧ-инфекцией и хроническим гепатитом С, получавших лечение ХГС // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2012. — Т. 4, № 2. — С. 64–72.
12. Пантелеев А.М., Голиусова М.Ю., Кабанова В.И. Результаты применения фосфазид (никавира) у больных с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2010. — № 2. — С. 75–79.

13. Покровский В.В., Юрин О.Г., Беляева В.В., Деткова Н.В., Соколова Е.В., Воронин Е.Е., Афонина Л.Ю., Фомин Ю.А., Королева Л.П. Рекомендации по профилактике вертикальной передачи ВИЧ от матери к ребенку: Учебное пособие. — М. «Медицина для Вас», 2003. — 29 с.
14. Деткова Н.В., Соколова Е.В., Бобкова М.Р., Буравцова Е.В., Петленко С.В. Невирапин (Вирамун) — препарат для профилактики передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2003. — № 6. — С. 55–57.
15. Иванова Э.С., Шмагель Н.Г., Воробьева Н.Н. Никавир в схемах химиопрофилактики вертикальной передачи ВИЧ-инфекции // Вопросы вирусологии. — 2010. — Т. 55, № 2. — С. 31–34.
16. Мошкович Г.Ф., Минаева С.В. Результаты ретроспективного исследования применения фофазида и азидотимидина для профилактики передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2013. — Т. 5, № 1. — С. 90–96
17. Ivanova E., Shmagel N. and Vorobeve N. Nikavir in Chemoprevention Regimens of Vertical HIV Transmission: Understanding HIV/AIDS Management and Care — Pandemic Approaches in the 21st Century // Publisher: InTech. — 2011. — P. 125–148.
18. Иванова Э.С., Воробьева Н.Н. Никавир в перинатальной химиопрофилактике: Материалы IV (XIII) Международной научной конференции «Онкология — XXI век». — Хошимин, Вьетнам, 2009. — С.88–91.
19. Иванова Э.С., Воробьева Н.Н., Красноперова Н.Н. Профилактика заражения ВИЧ-инфекцией медицинских работников: Материалы научной сессии 2007 года. — Пермь, 2007. — С.110–112.
20. Покровский В.В., Юрин О.Г., Кравченко А.В., Беляева В.В., Канестри Л.Ю., Афонина Т.Ю. Протоколы диспансерного наблюдения и лечения больных ВИЧ-инфекцией // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2014. — Вып. 6. — 43 с.
21. Юрин О.Г., Краевский А. А., Афонина Л. Ю., Балаганин В. А., Бурова Н. В., Воронин Е. Е., Колесник А. Н., Молодов И. Б., Мошкович Г. Ф. Фосфазад — новый отечественный противоретровирусный препарат // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2001. — № 1. — С. 43–45.
22. Khandazhinskaya A., Matyugina E., Shirokova E. Anti-HIV therapy with AZT prodrugs: AZT phosphonate derivatives, current state and prospects. // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. — 2010. — Vol. 6 (6). — P. 701–714.
23. Хандажинская А.Л., Широкова Е.А. 5'-Фосфонаты AZT: достижения и перспективы в лечении и профилактике ВИЧ-инфекции // Acta Naturae. — 2013. — Т. 5, № 3 (18). — С. 57–65.
24. Галегов Г.А. Никавир (фосфазад) — антиретровирусный препарат: антиВИЧ-активность, токсикология, фармакокинетика и некоторые перспективы клинического применения. // Антибиотики и химиотерапия. — 2004. — Т.49, №7. — С.3–8.
25. Протокол № 6НР-1-2013. Клиническое исследование препарата 6НР. Рандомизированное, простое слепое исследование I фазы по изучению безопасности и переносимости препарата 6НР с оценкой потенциальной терапевтической пользы при курсовом приеме у взрослых ВИЧ-инфицированных больных, ранее не получавших антиретровирусной терапии. Версия 2, от 20 декабря 2013 г. / ЗАО «Ассоциация АЗТ» — М.: ЗАО «Ассоциация АЗТ», 2013.
26. Соколов А.В. Терапевтический лекарственный мониторинг. // Качественная клиническая практика. — 2002. — №1. — С.78–88.
27. Протокол валидации № 07–2013. ВЭЖХ методики определения АЗТ и 6НР в плазме крови / ЗАО «Ассоциация АЗТ». — М.: ЗАО «Ассоциация АЗТ», 2013.
28. Эпштейн Н.А. Оценка пригодности (валидация) ВЭЖХ методик в фармацевтическом анализе // Химико-фармацевтический журнал. — 2004. — Т. 38, № 4. — С. 40–55.
29. Сапрыкин Л.В. Практика и методические основы ВЭЖХ. — М., 2006. — 151 с.
30. Леонова О.Н., Рахманова А.Г., Голицева М.Д., Смирнова Н.Л. Применение фосфазида у больных с продвинутой ВИЧ-инфекцией // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2013. — Т. 5, № 2. — С. 83–88.

Статья поступила 16.04.2015 г.

Контактная информация: Лисицина Зоя Николаевна, e-mail: spb.kdl.hiv@mail.ru

Коллектив авторов:

Лисицина Зоя Николаевна — к.м.н., доцент кафедры социально-значимых инфекций Первого Санкт-Петербургского Государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, заведующая клинико-диагностической лабораторией Санкт-Петербургского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, 190103, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 179, (812) 579-39-66;

Петрова Лариса — м.н.с. Института экспериментальной медицины; медицинский лабораторный техник Санкт-Петербургского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, 190103, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 179, (812) 579-39-66;

Беляков Николай Алексеевич — академик РАН, заведующий кафедрой социально-значимых инфекций Первого Санкт-Петербургского Государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова; главный научный сотрудник Института экспериментальной медицины СЗО РАН; руководитель Санкт-Петербургского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 179, (812) 251-08-53

Прибытковский Михаил Михайлович — начальник отдела контроля качества Производственно-коммерческой Ассоциации АЗТ, 121552, Москва, ул. Черепковская 3-я, 15А, (495) 414-62-35, zaoazt@mail.ru;

Симомян Алина Руслановна — к.х.н., научный сотрудник химико-технологической группы ЗАО «Производственно-коммерческая Ассоциация АЗТ», 121552, Москва, ул. Черепковская 3-я, 15А, (495) 414-60-91, zaoazt@mail.ru.