

## ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СУБСТАНЦИИ ЭФАВИРЕНЗА

### С.А. Золотов

директор по производству и разработкам ГЛС и АФС, ООО «АМЕДАРТ» (Москва, Россия)  
E-mail: duim50@gmail.com

### Е.С. Пономарев

технолог, ООО «АМЕДАРТ» (Москва, Россия)  
E-mail: eugene.s.ponomarev@gmail.com

### И.А. Даин

к.х.н., главный технолог, ООО «АМЕДАРТ» (Москва, Россия)  
E-mail: angenost@inbox.ru

### Н.Б. Демина

д.фарм.н., профессор, кафедра фармацевтической технологии, Институт фармации, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)  
E-mail: nbd217@mail.ru

### А.С. Золотова

к.фарм.н., ООО «АМЕДАРТ» (Москва, Россия)  
E-mail: max\_in\_a@mail.ru

### В.М. Ретивов

к.х.н., зам. директора по химическим исследованиям и технологиям, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (Москва, Россия)  
E-mail: retivov\_vm@nrcki.ru

### Г.А. Бузанов

к. х.н., ст. науч. сотрудник, лаборатория химии легких элементов и кластеров, ФГБУН «Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова» РАН (ИОНХ РАН) (Москва, Россия)  
E-mail: gbuzanov@yandex.ru

Цель работы – изучение физико-химических свойств, отечественной активной фармацевтической субстанции (АФС) эфавиренз производства ООО «АМЕДАРТ» (Российская Федерация).

В работе использованы современные методы: дифференциальной сканирующей калориметрии, рентгеновской порошковой дифракции, спектральной эмиссионной микроскопии, высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В процессе исследования определены: температура плавления, коэффициент липофильности, волновые числа, форма и размер частиц кристаллов, растворимость в биологическом интервале рН и в некоторых органических растворителях.

Установлено, что изученная АФС обладает минимумом эндотермического пика в районе 140 °С, полученный коэффициент липофильности равен 4,67. Активная фармацевтическая субстанция практически не растворима в водных средах в биологическом интервале рН, но хорошо растворима в большинстве полярных органических растворителей, таких как: метиловый спирт, этиловый спирт, ацетон и тетрагидрофуран. Она имеет кристаллическую структуру виде палочек от 3 до 18 мкм и частиц неправильной формы размером от 1 до 7 мкм, а также волновые числа – при углах 6,1; 6,4; 10,4; 11,0; 12,3; 13,3; 14,2; 16,9; 20,1; 21,3; 24,9.

Данные ДСК, ИК-спектроскопии и рентгеновской порошковой дифрактометрии показали, что субстанция представляет собой полиморфную форму I.

**Ключевые слова:** эфавиренз, растворимость, липофильность, полиморфизм.

**Для цитирования:** Золотов С.А., Пономарев Е.С., Даин И.А., Демина Н.Б., Золотова А.С., Ретивов В.М., Бузанов Г.А. Изучение физико-химических свойств субстанции эфавиренза. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(2):24–29. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-02-04>

Одним из заболеваний, несущих угрозу общественному здоровью, является ВИЧ-инфекция. Эфавиренз (ЭФА) – нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы (ННИОТ) – обладает доказанной эффективностью [1].

Эфавиренз входит в схемы антиретровирусной терапии первого ряда, согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [2], и является широко применяемым лекарственным препаратом.

Согласно данным Государственного реестра лекарственных средств [3], 11 отечественных производителей имеют действующее регистрационное удостоверение на лекарственный препарат, содержащий ЭФА, в том числе в комбинации с другими фармацевтическими субстанциями (ФС). Однако только два производителя в Российской Федерации имеют регистрационные удостоверения на ФС. В связи с высокой актуальностью ЭФА в компании ООО «АМЕДАРТ» (Россия) разработан собственный синтез ФС. Поэтому крайне необходимо подробное изучение физико-химических свойств полученного продукта для сравнительной оценки с известными из научных публикаций характеристиками эфавиренза.

Следует отметить, что сведения научных публикаций о физико-химических свойствах ЭФА крайне скудны. Известно, что его молекуле свойственен полиморфизм [4–6]. Установлено, что форма I является наиболее термодинамически устойчивой [6]. Полиморфные модификации различаются по физико-химическим свойствам и биодоступности, поэтому они должны быть подробно исследованы. Для этого применяют дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК), просвечивающую электронную микроскопию (ПЭМ), спектральные и другие методы. Эфавиренз обладает низкой растворимостью в водных средах и низкой проницаемостью, что характерно для соединений биофармацевтической классификационной системы класса IV [7], а также проявляет свойства слабого основания,  $pK_a=10,2$  [8].

**Ц е л ь р а б о т ы** – изучение физико-химических свойств синтезированного ЭФА.

Для выполнения этой цели были поставлены следующие задачи:

- изучить полученную субстанцию с помощью методов, позволяющих провести идентификацию и определить ее полиморфную модификацию;
- изучить растворимость субстанции ЭФА в органических растворителях и водных средах.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования выступал ЭФА серии 010520 (ООО «АМЕДАРТ», Россия). Стандартным образцом служил ЭФА USP, серия № R09740.

Буферные растворы и растворы кислот, использованные в работе, приготовлены в соответствии с ГФ РФ XIV.

Температуру плавления определяли капиллярным методом в соответствии с ОФС.1.2.1.0011.15 «Температура плавления». Дифференциальную сканирующую калориметрию проводили на приборе Q20P TA Instruments (США). Измерения выполняли в атмосфере воздуха при скорости нагрева  $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ . Температура нагревания – до  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Подготовка пробы: точную навеску ЭФА  $10,0\pm 0,1$  мг помещали в платиновый тигель, закрывали крышкой без отверстия и прессовали. Второй тигель оставался пустым.

Растворимость оценивали по концентрации насыщенного раствора, который получали растворением избытка ФС в растворителе при  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , в течение 24 ч при перемешивании на магнитной мешалке MR Hei-Tec (Heidolph, Германия) при скорости перемешивания 100 об/мин. Пробу пропускали через тефлоновый фильтр с размером пор  $0,45\text{ }\mu\text{м}$ . Концентрацию эфавиренза в органических растворителях определяли спектрофотометрически согласно ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях».

Концентрацию ЭФА в водных растворах определяли методом ВЭЖХ по методике, описанной в [9], с использованием хроматографа Shimadzu LC-20 Prominence с УФ-спектрофотометрическим детектором SPD-20A.

При определении коэффициентов распределения в микропробирки вносили по 3 мл насыщенного раствора ЭФА в октанол-1, добавляли по 3 мл насыщенного раствора ЭФА в среде буферных растворов, имеющих рН 1,2; 4,5 и 6,8. Пробирки перемешивали при комнатной температуре в течение 90 мин при скорости 300 колебаний в минуту на смесителе «Вортекс», после чего пробы центрифугировали в течение 20 мин при скорости 13000 об/мин.

Для исследования с помощью ПЭМ образцы ЭФА в виде порошка наносили на двустороннюю проводящую углеродную ленту (SPI Supplies, США), прикрепленную к алюминиевому столу. Затем образцы покрывали золотом (толщина слоя 5 нм) с использованием SPI-MODULE Sputter Coater (SPI Supplies, США). Образцы анализировали на двухлучевом растровом электронном микроскопе Quanta 200 3D (FEI Company, США) в режиме высокого вакуума с ускоряющим напряжением, равным 10 кВ.

Рентгеновскую порошковую дифрактометрию ЭФА проводили с использованием автоматического

порошкового дифрактометра Ultima IV (Rigaku, Япония) в соответствии с ОФС.1.2.1.1.0011.15 «Рентгеновская порошковая дифрактометрия». ИК-спектры получали с помощью ИК-Фурье спектрометра VERTEX 70 (Bruker, США). ИК-спектры регистрировали без дополнительной пробоподготовки при помощи приставки нарушения полного внутреннего отражения Pike MIRacle (однократное отражение) с кристаллом алмаз/ZnSe.

Аналитические исследования методами ДСК и рентгеновской порошковой дифрактометрии выполняли с использованием научного оборудования ЦКП НИЦ «Курчатовский институт» – ИРЕА при финансовой поддержке проекта Российской Федерацией в лице Минобрнауки России, Соглашение № 075-11-2021-070 от 19.08.2021. Остальные исследования выполнены в компании ООО «АМЕДАРТ» (Россия).

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных осуществляли в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV с применением программы StatSuite на платформе iOS и Microsoft Excel 2016, относительное стандартное отклонение для вычислений не превышает 3%.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эфавиренз – белый или бело-серый кристаллический порошок, его формула приведена на рис. 1.

**Температура плавления** ЭФА находится в диапазоне 138–142 °С, что было установлено методом ДСК (рис. 2). Минимум эндотермического пика наблюдается при температуре 140,10 °С. Наличие единственного экстремума на термограмме характерно для формы I [5, 6].

**Рентгеновская порошковая дифрактометрия.** На рис. 3 представлены результаты рентгеновской порошковой дифрактометрии образца ЭФА. На дифрактограмме наблюдаются пики (волновые числа) при углах 6,1, 6,4, 10,4, 11,0, 12,3, 13,3, 14,2, 16,9, 20,1, 21,3, 24,9, что совпадает с данными [5, 6] для формы I.

**Растворимость** является одним из наиболее важных параметров, характеризующих фармацевтическую субстанцию, так как непосредственно влияет на абсорбцию и биодоступность, особенно для твердых пероральных лекарственных препаратов. В табл. 1 представлены усредненные результаты изучения растворимости субстанции в водных средах с различным рН, полученные по трем повторностям.

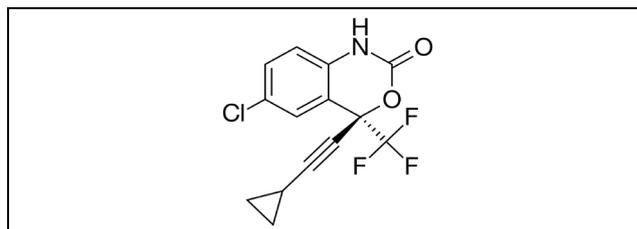


Рис. 1. Структурная формула молекулы эфавиренза

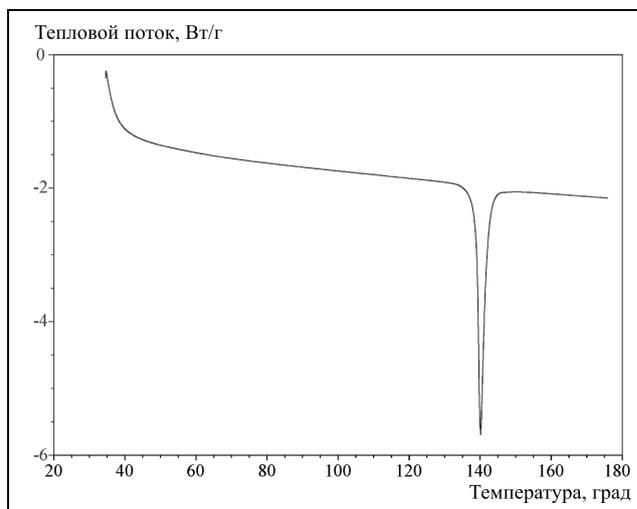


Рис. 2. Термограмма ДСК образца эфавиренза

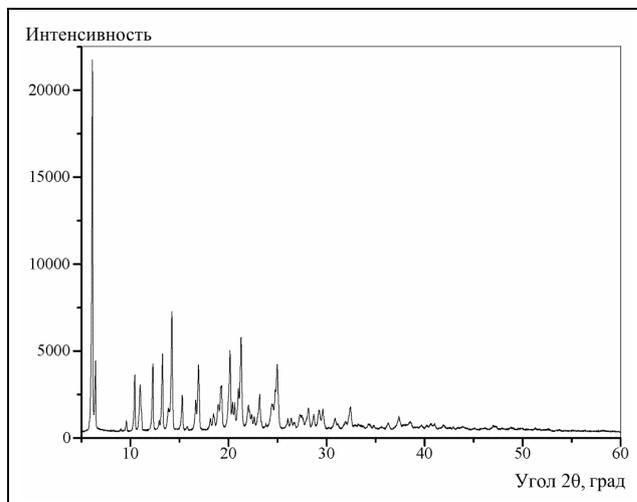


Рис. 3. Дифрактограмма образца эфавиренза

Результаты табл. 1 свидетельствуют о том, что ЭФА практически нерастворим в водных средах. Растворимость соединения незначительно повышается со снижением рН, что характерно для слабых оснований.

Усредненные результаты определения растворимости ЭФА в органических растворителях, полученные по трем повторностям, приведены в табл. 2.

**Таблица 1. Растворимость эфавиренза в водных средах с pH от 1,2 до 6,8**

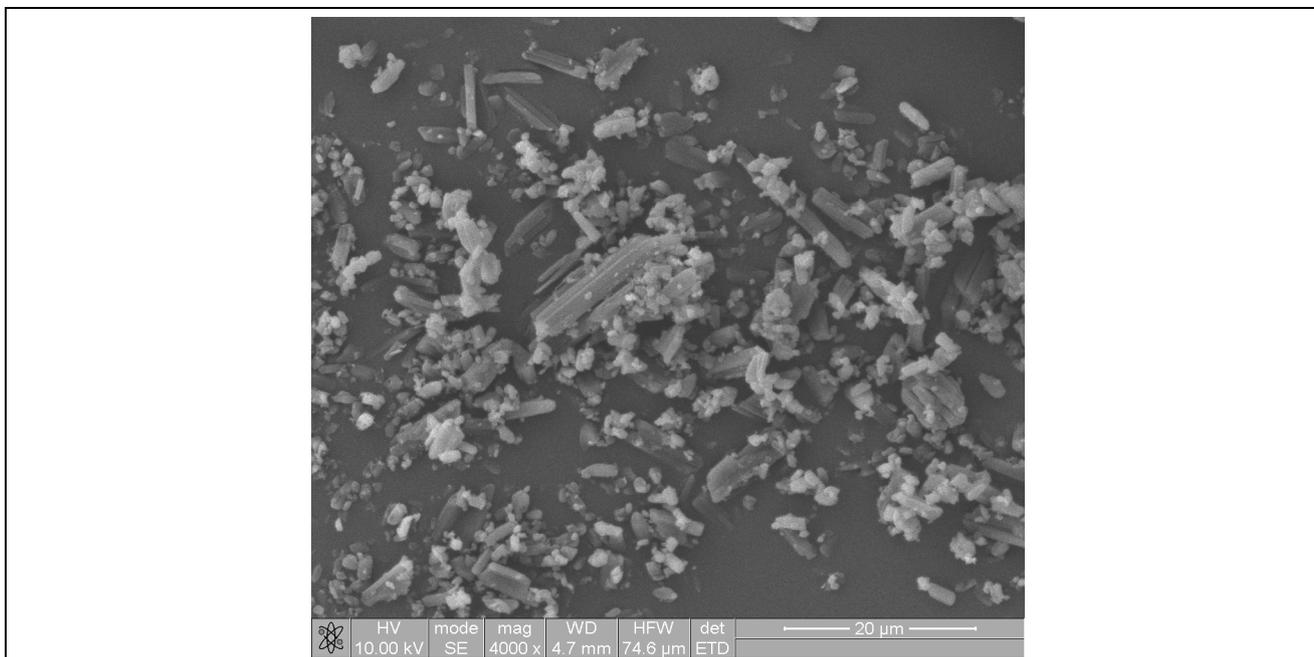
Растворитель/pH	Растворимость, г на 100 мл раствора	Интерпретация растворимости по ГФ РФ
0,06 М HCl/1,2	$1,20 \cdot 10^{-3}$	Практически нерастворим
Ацетатный буферный раствор/4,5	$1,14 \cdot 10^{-3}$	Практически нерастворим
Фосфатный буферный раствор/6,8	$1,08 \cdot 10^{-3}$	Практически нерастворим

**Таблица 2. Растворимость эфавиренза в органических растворителях**

Растворитель	Растворимость, г на 100 мл раствора	Интерпретация растворимости по ГФ РФ
Этиловый спирт	107,04	Очень легко растворим
Тetraгидрофуран	87,64	Легко растворим
Метилловый спирт	76,6	Легко растворим
Ацетон	76,44	Легко растворим
Хлороформ	67,0	Легко растворим
1-Октанол	51,0	Легко растворим
н-Гептан	0,40	Малорастворим

**Таблица 3. Коэффициент распределения  $\log P$  эфавиренза в системе растворителей «1-октанол/водный буферный раствор»**

Водный раствор в системе растворителей	$\log P$	pH раствора
0,06 М HCl	4,63	1,2
Ацетатный буферный раствор	4,65	4,5
Фосфатный буферный раствор	4,67	6,8



**Рис. 4.** Микрофотография образца эфавиренза; ув. в 4000 раз

Исходя из результатов, представленных в табл. 2, можно сделать вывод, что ЭФА легко растворим в полярных растворителях спиртах, кетонах, простых эфирах и прочих и малорастворим в неполярных, например в гептане.

**Липофильность** представляет собой важный параметр, так как влияет на проницаемость, распределение и метаболизм лекарственного препарата. Усредненные результаты определения коэффициента распределения  $\log P$ , полученные по трем повторностям, установленные в системах «октанол-1/водный раствор», приведены в табл. 3. В системе растворителей «октанол-1/фосфатный буферный раствор pH 6,8»  $\log P$  составил 4,67, что согласуется с [10].

**Форма частиц.** На рис. 4, полученном с помощью ПЭМ, видны два типа частиц: палочки размером от 3 до 18 мкм и частицы неправильной формы размером от 1 до 7 мкм, что характерно для формы I [5].

**Спектрометрия в ИК-области.** На инфракрасном спектре ЭФА (рис. 5) получены следующие пики: валентные колебания N-H: 3313; валентные колебания C≡C: 2249; валентные колебания C=O: 1744; деформационные и скелетные колебания, область «отпечатков пальцев»: 1601, 1494, 1316, 1241, 1184, 1074, 1038, 976, 926, 835, 744, 656  $\text{см}^{-1}$ . Данные значения также соотносятся с описанными в [5] для формы I.

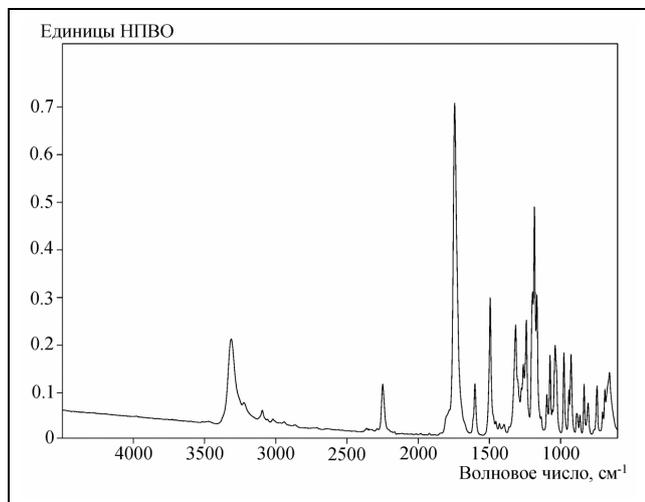


Рис. 5. ИК-спектр образца эфавиренза

## ВЫВОДЫ

Эфавиренз – липофильная, плохо растворимая в водных средах, но растворимая в большинстве полярных органических растворителей субстанция. Данные ДСК, ИК-спектрометрии и рентгеновской порошковой дифрактометрии показали, что исследованная субстанция представляет собой полиморфную форму I.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Dahwadi D.A., Ozuna L., Harvey B.H. et al.* Adverse neuropsychiatric events and recreational use of efavirenz and other HIV-1 antiretroviral drugs. *Pharmacol. Rev.* 2018; 70(3): 684–711.
2. *Vitoria M., Rangaraj A., Ford N., Doherty M.* Current and future priorities for the development of optimal HIV drugs. *Curr. Opin. HIV AIDS.* 2019; 14(2): 143–149.
3. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. URL: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx> (дата обращения 05.09.2021).
4. *Fandaruff C., Rauber G.S., Araya-Sibaja A.M., et al.* Polymorphism of anti-HIV drug efavirenz: investigations on thermodynamic and dissolution properties. *Cryst. Growth Des.* 2014; 14(10): 4968–4975.
5. *Perold Z., Swanepoel E., Brits M.* Anomalous dissolution behaviour of a novel amorphous form of Efavirenz. *Am. J. Pharm. Tech. Res.* 2012; 2(2): 272–292.
6. *Radesca L.A., Maurin M.B., Rabel S.R., Moore J.R.* Crystalline efavirenz: US patent No. 6673372. 2004.
7. *Gigante V., Pauletti G.M., Kopp S., et al.* Global testing of a consensus solubility assessment to enhance robustness of the WHO biopharmaceutical classification system. *ADMET and DMPK.* 2021; 9(1): 23–39.
8. *Habyalimana V., Mbinze J.K., Yemoa A.L. et al.* Application of design space optimization strategy to the development of LC methods for simultaneous analysis of 18 antiretroviral medicines and 4 major excipients used in various pharmaceutical formulations. *J. Pharmaceut. Biomed.* 2017; 139: 8–21.
9. *Захода О.Ю., Садчикова Н.П., Демина Н.Б. и др.* Определение количественного содержания эфавиренза методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектором. *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2020; 2: 65–72 (Zahoda O.Ju., Sadchikova N.P., Demina N.B. i dr. *Opređenje količestvennog sadržanja jefavirenza metodom visokojeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii s ul'trafioljetovym detektorom. Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Himija. Biologija. Farmacija.* 2020; 2: 65–72).
10. *Curley P., Rajoli R.K., Moss D.M. et al.* Efavirenz is predicted to accumulate in brain tissue: an *in silico*, *in vitro*, and *in vivo* investigation. *ANTIMICROB AGENTS CH.* 2017; 61(1): e01841–16.

Поступила 28 сентября 2021 г.

# THE STUDY OF THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF THE SUBSTANCE EFAVIRENZ

© Authors, 2022

**S.A. Zolotov**

Director for Production and Development of OTC and API, AMEDART LLC (Moscow, Russia)

E-mail: duim50@gmail.com

**E.S. Ponomarev**

Technologist, AMEDART LLC (Moscow, Russia)

E-mail: eugene.s.ponomarev@gmail.com

**I.A. Dain**

Ph.D. (Chem.), Chief Technologist, AMEDART LLC (Moscow, Russia)

E-mail: angrenost@inbox.ru

**N.B. Demina**

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Department of Pharmaceutical Technology, Institute of Pharmacy,

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenov University) (Moscow, Russia)

E-mail: nbd217@mail.ru

**A.S. Zolotova**

Ph.D. (Pharm.), AMEDART LLC (Moscow, Russia)

E-mail: max\_in\_a@mail.ru

**V.M. Retivov**

Ph.D. (Chem.), Deputy Director for Chemical Research and Technology,

National Research Center "Kurchatov Institute" (Moscow, Russia)

E-mail: retivov\_vm@nrcki.ru

**G.A. Buzanov**

Ph. D. (Chem.), Senior Research Scientist, Laboratory of Chemistry of Light Elements and Clusters,

Institute of General and Inorganic Chemistry n.a. N.S. Kurnakov of RAS (IONC RAS) (Moscow, Russia)

E-mail: gbuzanov@yandex.ru

The aim of the work was to study the physicochemical properties of the domestic active pharmaceutical substance efavirenz produced by AMEDART LLC of the Russian Federation.

Modern methods are used: differential scanning calorimetry, X-ray powder diffraction, spectral emission microscopy, high performance liquid chromatography, etc.

The melting point, lipophilicity coefficient, wave numbers, shape and size of crystal particles, solubility in the biological pH range and in some organic solvents were determined.

It has been established that the studied API has a minimum endothermic peak in the region of 140°C, the obtained lipophilicity coefficient is 4.67, it is practically insoluble in aqueous media in the biological pH range, but it is well soluble in most polar organic solvents, such as: methanol, ethyl alcohol, acetone and tetrahydrofuran, has a crystalline structure in the form of sticks from 3 to 18 microns and irregularly shaped particles from 1 to 7 microns in size, as well as wave numbers – angles of 6.1, 6.4, 10.4, 11.0, 12.3, 13.3, 14.2, 16.9, 20.1, 21.3, 24.9.

DSC, IR spectrometry and X-ray powder diffraction data showed that the substance is a polymorph form I.

**Key words:** efavirenz, solubility, lipophilicity, polymorphism.

---

**For citation:** Zolotov S.A., Ponomarev E.S., Dain I.A., Demina N.B., Zolotova A.S., Retivov V.M., Buzanov G.A. The study of the physico-chemical properties of the substance efavirenz. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(2):24–29. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-02-04>