

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ
ЭФАВИРЕНЗА МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ
ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
С УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ ДЕТЕКТОРОМ**

**О. Ю. Захода¹, Н. П. Садчикова², Н. Б. Демина², С. А. Золотов¹,
А. С. Золотова³, И. И. Краснюк²**

¹ООО "АМЕДАРТ"

² ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

³ ООО «Фарм-Синтез Лаб» Россия, 121205, г. Москва

Поступила в редакцию 24.04.2020 г.

Аннотация. Данная статья является результатом разработки методики количественного определения эфавиренза с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в лекарственных препаратах.

Для достижения оптимальных значений параметров пригодности хроматографической системы были обработаны данные, полученные при исследовании более чем 10 хроматографических колонок в разных хроматографических условиях. Обработана доступная литература в том числе и из иностранных источников информации. Наилучший результат достигнут при использовании хроматографической колонки Zorbax SB-CN, силикагельной колонки, химически модифицированной нитрильными группами. Она характеризуется хорошей эффективностью, стабильностью к условиям агрессивных сред, термостабильностью.

Преимуществами разработанной методики являются скорость, однозначность результатов и диапазон применения (от 5 % до 130 % от ожидаемой концентрации целевых веществ в растворе). Такой широкий диапазон значений концентраций позволяет использовать данную методику как для исследования кинетики растворения и при проведении теста сравнительной кинетики растворения, так и для определения предельно допустимых уровней загрязнений производственного оборудования (ПДУЗ) и сточных вод. Это доказывает, что разработанная методика подходит для решения различных задач фармацевтического производства. Кроме того, она соответствует требованиям современного хроматографического анализа – скорости и экономичности.

В ходе подготовки статьи были проведены необходимые исследования для подтверждения валидности методики, были учтены все основные требования государственной фармакопей РФ. Хроматограммы, приведенные в статье доказывают селективность методики. Рассчитаны стандартное отклонение площадей пиков эфавиренза, относительное стандартное отклонение по 5 хроматограммам стандартного раствора, а также коэффициент корреляции, доказывающий линейность методики. Кроме того, был проведен анализ прецизионности (сходимости и внутрिलाбораторной прецизионности) аналитической методики, статистическая оценка была проведена с использованием F-критерия Фишера и t-критерия Стьюдента.

Работоспособность данного метода охарактеризована следующими параметрами: фактор асимметрии пика, число теоретических тарелок (ЧТТ), относительное стандартное отклонение.

На основе полученных данных сделано заключение о работоспособности методики.

Ключевые слова: эфавиренз, ВЭЖХ, количественное определение.

Распространение ВИЧ-инфекции в мире остаётся серьёзной научной, медицинской и социально-экономической проблемой [1]. Одним из противовирусных средств, рекомендованных для

системного применения при терапии ВИЧ, является эфавиренз [2] [3] [4] [5] – нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы.

Эфавиренз выпускается в капсулах, таблетках, покрытых оболочкой.

Лекарственное средство представлено в Фармакопее США (2006) [6].

© Захода О. Ю., Садчикова Н. П., Демина Н. Б., Золотов С. А., Золотова А. С., Краснюк И. И., 2020

Установление количественного содержания эфавирензавлекарственных препаратах может быть осуществлено различными методами колориметрии [7], тонкослойной хроматографией [8], спектрофотометрии [9], масс-спектрометрии [10] [11].

Отдельно отметим методы ВЭЖХ с детектором УФ, как наиболее близкие к нашему методу. Анализ многокомпонентной смеси, включающей эфавиренз [12], анализ эфавиренза с внутренним стандартом [13], селективный анализ эфавиренза на длинной хроматографической колонке с относительно большим временем удерживания [14] [15], относительно короткие методики анализа [16].

Метод УФ-спектрофотометрии рекомендован Ф США [17] для определения эфавиренза в среде растворения при оценке его высвобождения из таблеток. Метод актуален только при условии, что раствор не содержит других компонентов, мешающих проведению анализа. Установление количественного содержания лекарственного вещества осуществляется одновременно с испытанием на посторонние примеси методом ВЭЖХ. С точки зрения экономии времени желательно использовать экспресс-метод определения количественного содержания лекарственного средства, это помогает свести к минимуму простой производства между технологическими стадиями. Методика Ф США неприемлема для решения различных аналитических задач в условиях фармацевтического производства: определение предельно допустимых уровней загрязнений производственного оборудования (ПДУЗ), сточных вод, исследовании кинетики растворения и проведении теста сравнительной кинетики растворения.

Нами изучены условия ВЭЖХ анализа эфавиренза для оптимизации методики его количественного определения при контроле качества препарата, целевого продукта на технологических стадиях производства с целью сокращения временных и материальных затрат на производство препарата.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Материалы

Эфавиренз стандартный образец (USP № 1234103), додецилсульфат натрия (Panreac № 132363, for analysis), метанол (Macron № 6712-25, for HPLC), вода для ВЭЖХ, трифторуксусная кислота (Sigma-Aldrich № 302031, for HPLC).

Оборудование

Хроматограф Shimadzu LC-20 Prominence с УФ-спектрофотометрическим детектором SPD-20A.

Хроматографические условия

Колонка хроматографическая Zorbax SB-CN 150x4.6 мм, 5 мкм (Agilent № 883975-905). Подвижная фаза А: метанол – трифторуксусная кислота – вода (200:1:1800 по объёму). Подвижная фаза Б: метанол – трифторуксусная кислота – вода (1800:1:200 по объёму); Режим элюирования: изократический (ПФ А:ПФ Б - 41:59); Скорость потока: 1.5 мл/мин; Температура термостата колонок: 40 °С; Объём вводимой пробы: 20 мкл; Длина волны детектирования: 250 нм; Время анализа: 6 минут.

Приготовление стандартного раствора

Около 30 мг стандартного образца эфавиренза помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 1 мл метанола для ускорения растворения эфавиренза, перемешивают до полного растворения, доводят объём раствора 2.0 % раствором натрия додецилсульфата до метки и перемешивают. 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора до метки 2.0 % раствором натрия додецилсульфата и перемешивают. Концентрация эфавиренза в растворе около 0.012 мг/мл.

Приготовление разбавленного стандартного раствора

1 мл стандартного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объём раствора 2.0 % раствором натрия додецилсульфата до метки и перемешивают. Концентрация эфавиренза в растворе около 0.0012 мг/мл.

Приготовление испытуемого раствора

В зависимости от целей и задач испытуемый раствор разводят в концентрации 0.012 мг/мл 2.0 % раствором натрия додецилсульфата и перемешивают до полного растворения испытуемого образца. Например, в испытании по тесту «Растворение» таблеток дозировкой 600 мг предусмотрено использование 1000 мл 2.0 % раствора натрия додецилсульфата. Для количественного определения эфавиренза в среде растворения. Пробу фильтруют через шприцевой фильтр Владипор МФФК-3Г с диаметром пор 0.45 мкм. 2 мл фильтрата разводят в 100 мл 2.0 % раствора натрия додецилсульфата, перемешивают и хроматографируют.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В соответствии с существующими требованиями аналитическая методика, применяемая для контроля качества лекарственного средства, должна быть валидирована [18] [19] [20].

Разработанная методика была валидирована по следующим параметрам:

1. Селективность
2. Аналитическая область
3. Линейность
4. Правильность
5. Прецизионность

Селективность методики

Селективность методики оценивали на основании сопоставления хроматограмм стандартного раствора эфавиренза, растворителя и плацебо при длине волны 250 нм.

Отсутствие на хроматограммах растворителя и плацебо пиков с временем удерживания, соответствующим времени удерживания пика эфавиренза подтверждает специфичность методики (см. рисунок 1-3).

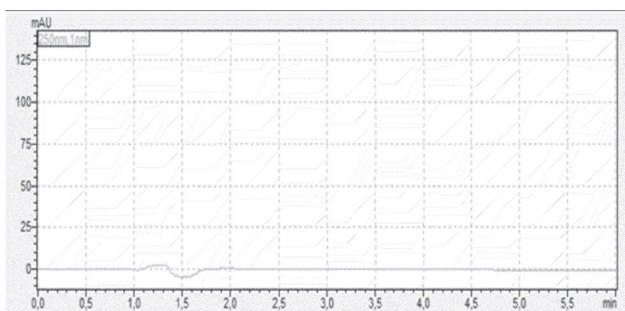


Рис. 1. Хроматограмма растворителя

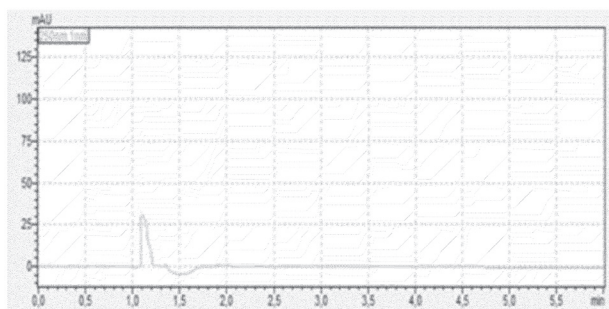


Рис. 2. Хроматограмма плацебо

Линейность и аналитическая область методики

Концентрация эфавиренза в растворе стандартов (0.012 мг/мл) была принята равной ожидаемой

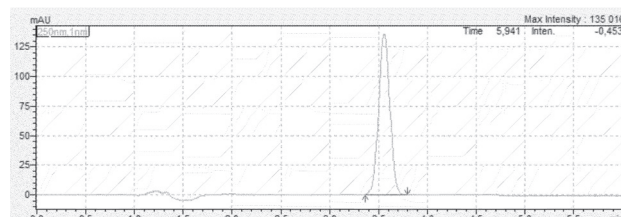


Рис. 3. Хроматограмма стандартного раствора эфавиренза

концентрации действующего вещества в пробе. Область аналитической методики была провалидирована в диапазоне от 5% до 130% от ожидаемой концентрации целевых веществ в растворе.

Исследование аналитической области проводилось одновременно с исследованием линейности. Результаты приведены в таблице 1.

Для установления линейности были приготовлены растворы из модельной смеси (для приготовления модельной смеси была выбрана смесь вспомогательных веществ препарата Стокрин (активное вещество: эфавиренз 600 мг; вспомогательные вещества: гипролоза, магния стеарат, микрокристаллическая целлюлоза, натрия кроскармеллоза, лактозы моногидрат, натрия лаурилсульфат; состав оболочки: Опадрай желтый (Opadry® Yellow), в состав которого входят титана диоксид (E171), гипромеллоза 6сР (HPMC 2910), воск карнаубский, макрогол (PEG400), краситель железа оксид желтый (E172)) на 8 уровнях концентрации анализируемого вещества (5%, 20%, 50%, 80%, 90%, 100%, 110%, 130%).

Полученные значения приведены в таблице 2.

На рисунке 4 представлена линейная зависимость площади пика эфавиренза от концентрации раствора (мкг/мл).

Установлено, что линейность соблюдается в интервале концентраций: от 5 до 130 %.

Прецизионность

Прецизионность была исследована в двух вариантах:

1. Сходимость
2. ВнутрILAбораторная прецизионность

Таблица 1.

Результаты оценки аналитической области методики

% от ожидаемой концентрации	$C_{исп.}$, мкг/мл	$C_{ип.}$, мкг/мл	S
5	0.60	0.62	5527
20	2.40	2.50	22176
50	6.00	6.01	54892
80	9.60	9.58	87526
90	10.80	10.79	98709
100	12.00	12.10	109895
110	13.20	13.18	118562
130	15.60	15.58	142437

Таблица 2.
Результаты оценки линейности.

%	S	C, мкг/мл
5	5527	0.62
20	22176	2.50
50	54892	6.01
80	87526	9.58
90	98709	10.79
100	109895	12.10
110	118562	13.18
130	142437	15.58

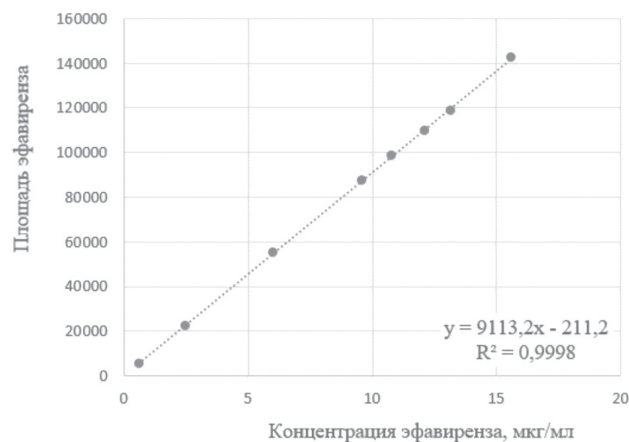


Рис. 4. График зависимости площади пика от концентрации

Результаты, полученные по данным показателям, приведены в таблице 3.

Таблица 3.
Результаты тестов сходимости и внутрिलाбораторная прецизионность.

Сходимость		Внутрिलाбораторная прецизионность	
S	X, мг	S	X, мг
109611	598.50	109584	598.30
109657	598.70	109756	599.20
109712	599.00	109725	599.10
109620	598.50	109602	598.40
109657	598.70	109675	598.80
109734	599.10	109767	599.30
X _{ср}	598.70	X _{ср}	598.90
SD	0.27	SD	0.43
дисперсия	0.07	дисперсия	0.18
RSD, %	0.05	RSD, %	0.07

Стандартное отклонение площадей пиков эфавиренза составило 0.27, дисперсия 0.07, относительное стандартное отклонение по 5 хроматограммам стандартного раствора составило – 0.31 %.

Внутрिलाбораторная прецизионность учитывает влияние дополнительных случайных факторов при использовании методики в соответствии с её назначением в пределах одной лаборатории [20].

В ходе проведения эксперимента было доказано, что средние результаты, полученные двумя

химиками, статистически достоверно (P = 95 %) не отличаются друг от друга.

Статистическая оценка была проведена с использованием F-критерия Фишера и t-критерия Стьюдента [20]:

$$F_{пр} = 1.59 < F_{табл} = 5.05$$

$$t_{пр} = 0.52 < t_{табл} = 2.23$$

Правильность

Правильность методики оценивали на основании результатов количественного определения эфавиренза в модельных смесях и статистической обработке результатов анализа

Для оценки Правильности используются результаты теста Линейность (см. таблицу 2).

Свободный член в уравнении линейной регрессии должен статистически достоверно не отличаться от нуля:

$$|a| < t_{табл}(n - 2; 0.95) \times S_a$$

Таблица 4.

Результаты определения правильности.

Величина свободного члена прямой, а	- 211
Доверительный интервал неопределенности, Δа	1242
Критерий приемлемости	211 < 1242

Проверка пригодности хроматографической системы (ППХС)

Работоспособность данного метода характеризуется следующими параметрами:

Фактор асимметрии пика – 1.03;

ЧТТ (число теоретических тарелок) – 3859;

Относительное стандартное отклонение, рассчитанное по 5 хроматограммам стандартного раствора – 0.21 %.

Для достижения оптимальных критериев ППХС были обработаны данные, полученные при исследовании более чем 10 хроматографических колонок в разных хроматографических условиях таких как: Zorbax SB-Phenyl 150 × 4.6 mm 3.5 μm, YMC-Pack C4 150 × 4.6 mm 3 μm, Luna Phenomenex 125 × 4 mm 3 μm

Результаты валидационных испытаний методики количественного определения эфавиренза в лекарственном препарате представлены в таблице 5.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика количественного определения эфавиренза в лекарственных препаратах. Проведены валидационные испытания, которые доказали, что данная методика обладает селективностью, правильностью, линейностью и сходимостью.

Таблица 5.

Валидационные характеристики методики.

Показатель	Критерий приемлемости	Полученный результат
Селективность	Системные пики и пики плацебо не перекрываются с пиком эфавиренза.	Соответствует.
Линейность	Коэффициент корреляции $r \geq 0.99$	0.999
Сходимость	относительное стандартное отклонение RSD, $\% \leq 2 \%$	0.31
Внутрилабораторная сходимость	$F_{расч} < F_{табл} (P = 95 \%)$	Соответствует.
	$t_{расч} < t_{табл} (P = 95 \%)$	Соответствует.
Правильность	$ a < t_{табл}(n - 2; 0.95) \times S_a$	211 < 1242

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воронин Е. Е. // Формирование системы оценочных данных распространения вич-инфекции в Российской Федерации. 2019.
2. Еременко Н. Н., Губенко А. И., Зебрев А. И., Лысикова И. В. // Современные подходы в лечении ВИЧ-инфицированных больных. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2014. СС. 40-45.
3. Прокофьева М. М., Кочетков С. Н., Правосолов В. С. // Терапия ВИЧ-инфекций: методы и перспективы. Acta Naturae (русскоязычная версия). 2016. СС. 26-36.
4. Юрин О. Г., Ефремов О. С. // Европейские и американские рекомендации по лечению ВИЧ-инфекций. Медицинский совет. 2017. СС. 67-72.
5. De Clercq E. // Non-Nucleosid Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs): Past, Present, Future. Chem Biodivers. 2004. PP. 44-64. DOI: 10.1002/cbdv.200490012
6. USP-NF Efavirenz. 2017.
7. Srilatha P., Sathish N. K., Prakash Kumar B. // Quantitative determination of Efavirenz in bulk drug and formulation by colorimetry. Pelagia Research Library. 2014. 5(4). PP. 176-180.
8. Hमारapurkar P., Phale M., Shah N. // Quantitative Estimation of Efavirenz by High Performance Thin Layer Chromatography. Journal of Young Pharmacist. 2009. PP. 359-363. DOI: 10.4103/09751483.59328
9. Prathap B., Dey A., Srinivasa Rao I G., Vennela S., Hussain S. // Method Development and Validation of Efavirenz in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form by UV Spectrophotometer. International Journal of innovative Pharmaceutical Research. 2013. 4(1). PP. 269-273.
10. Praveen Srivastava, Ganesh S., Robert Gross, Jeffrey S. // A Sensitive and Selective Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry Method for Quantitative Analysis of Efavirenz in Human Plasma. Plos one. 2013. 8(6).
11. Yong Huang, Monica Gandhi, Ruth M. Greenblatt, Winnie Gee // Sensitive analysis of anti-HIV drugs, efavirenz, lopinavir and ritonavir, in human hair by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry. 2008. 22(21).
12. Ramaswamy A., Smith A., Gnana Dhas A. // Development and validation of analytical method for quantitation of Emtricitabine, Tenofovir, Efavirenz based on HPLC. Arabian Journal of Chemistry. 2014.
13. Gupta S., Kesarla R., Chotai N., Omri A. // Development and validation of reversed-phase HPLC gradient method for the estimation of efavirenz in plasma. Plos one. 2017. 12(5).
14. Surendra Babu C., Venu Gopal K., Ananda Reddy K. // Determination of Efavirenz in tablet dosage form by using RP-HPLC. International Journal of Chemical Science. 2011. 9(4). PP. 1663-1668.
15. Ravisankar P., Mounika G., Devadasu CH., Devala Rao G. // Novel analytical method development and validation for the quantitative analysis of Efavirenz in bulk and pharmaceutical dosage forms by RP-HPLC. The pharma innovation. 2014.
16. Bienvenu E., Hoffmann KJ., Ashton M., Kayumba PC. // A rapid and selective HPLC-UV method for the quantitation of efavirenz in plasma from patients on concurrent HIV/AIDS and tuberculosis treatments. Biomed Chromatogr. 2013.
17. USP-NF Efavirenz tablets. 2014.
18. Аладышева Ж. И., Береговых Е. Е., Мешковский А. П. // Основные принципы проведения валидации на фармацевтическом производстве. Русский врач. 2005. 186 с.
19. Дьяконова Е. В., Шарахова О. В., Быстрицкий Л. Д. // Методические подходы организации валидационных мероприятий на предприятии – производителе лекарственных средств. Сибирский медицинский журнал (Томск). 2009. №2. Вып. 2. СС. 94-97.
20. Государственная фармакопея Российской Федерации // МЗ РФ. XIV изд. Т.1. ОФС.1.1.0012.15. Москва, 2018.

Захода О. Ю., Садчикова Н. П., Демина Н. Б., Золотов С. А., Золотова А. С., Краснюк И. И.

ООО «Амедарт»
*Захода О. Ю., Руководитель Аналитического
отдела
E-mail: olegzakhoda@yandex.ru

«Amedart» LLC
Zakhoda O. Y., Head of Analytical Department
E-mail: olegzakhoda@yandex.ru

Золотов С. А., директор по производству и
разработкам лекарственных препаратов и ак-
тивных фармацевтических субстанций
E-mail: duim50@gmail.com

Zolotov S. A., Director of production and
development of medicines and active pharmaceutical
substances
E-mail: duim50@gmail.com

ФГАОУ ВО Первый Московский государствен-
ный медицинский университет им. И.М. Сеченова
МЗ РФ
Садчикова Н. П., доктор фармацевтических
наук, профессор кафедры фармацевтической хи-
мии им. А.П. Арзамасцева
E-mail: nsadchikova@gmail.com

I.M. Sechenov First Moscow State Medical
University
Sadchikova N. P., PhD., DSci., Full Professor of
the Department of pharmaceutical chemistry A. P.
Arzamastseva
E-mail: nsadchikova@gmail.com

Демина Н. Б., доктор фармацевтических наук,
профессор кафедры фармацевтической технологии
E-mail: nbd217@mail.ru

Demina N. B., PhD., DSci., Full Professor of the
Department of pharmaceutical technology
E-mail: nbd217@mail.ru

Краснюк И. И., доктор фармацевтических
наук, профессор кафедры фармацевтической тех-
нологии
E-mail: krasnyuki@mail.ru

Krasnyuk I. I., PhD., DSci., Full Professor of the
Department of pharmaceutical technology
E-mail: krasnyuki@mail.ru

ООО «Фарм-Синтез Лаб»
Золотова А. С., кандидат фармацевтических
наук, руководитель лаборатории технологий ле-
карственных препаратов
E-mail: max_in_a@mail.ru

"Pharm-Sintez lab» LLC
Zolotova A. S., PhD., Head of the laboratory of
drug technologies
E-mail: max_in_a@mail.ru

DETERMINATION OF THE QUANTITATIVE CONTENT OF EFAVIRENZ BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH AN ULTRAVIOLET DETECTOR

O. Yu. Zakhoda¹, N. P. Sadchikova², N. B. Demina², S. A. Zolotov¹, A. S. Zolotova³, I. I. Krasnyuk²

¹ "AMEDART" LLC

² First Moscow State Medical University

³ «Farm-Sintez Lab» LLC

Abstract. This article is the result of the development of a method for the quantitative determination of efavirenz using high-performance liquid chromatography (HPLC) in medicinal products.

To achieve optimal system suitability parameters, data were analyzed with using more than 10 chromatographic columns under different chromatographic conditions. Available literature has been analyzed too, including from foreign sources of information. The best result is achieved when using the Zorbax SB-CN chromatographic column, a silica column chemically modified with nitrile groups. It is characterized by good efficiency, stability to aggressive media conditions, and thermal stability.

The advantages of the developed method are the speed, unambiguity of the results and the range of application (from 5 % to 130 % of the expected concentration of the target substances in the solution). This

wide range of concentration values makes it possible to use this technique both for studying the dissolution kinetics and for conducting a comparative dissolution kinetics test, and for determining the maximum permissible levels of contamination of production equipment (PDUZ) and wastewater. This proves that the developed method is suitable for solving various problems of pharmaceutical production. In addition, it meets the requirements of modern chromatographic analysis-speed and efficiency.

During the preparation of the article, the necessary studies were carried out to confirm the validity of the method, and all the main requirements of the state Pharmacopoeia of the Russian Federation were taken into account. The chromatograms given in the article prove the selectivity of the method. The standard deviation of the efavirenz peak areas, the relative standard deviation for 5 chromatograms of the standard solution, and the correlation coefficient proving the linearity of the method were calculated. In addition, an analysis of the precision (convergence and intra-laboratory precision) of the analytical technique was performed, and a statistical evaluation was performed using the Fisher F-test and the student t-test.

The efficiency of this method is characterized by the following parameters: the peak asymmetry factor, the number of theoretical plates (CHT) and the relative standard deviation.

Based on the data obtained, a conclusion was made about the efficiency of the method.

Keywords: efavirenz, HPLC, quantitative determination.

REFERENCES

- Voronin E. E., Formirovanie sistemy otsenochnykh dannykh rasprostraneniya vich-infektsii v Rossiiskoi Federatsii, 2019.
- Eremenko N. N., Gubenko A. I., Zebrev A. I., Lysikova I. V., Modern approaches to the treatment of HIV-positive patients, *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertisy sredstv meditsinskogo primeneniya*, 2014, pp. 40-45.
- Prokofjeva M. M., Kochetkov S. N., Prasolov V. S., Therapy of HIV Infection: Current approaches and Prospects, *Acta Naturae (English version)*, 2016, pp. 26-36.
- Yurin O. G., Efremov O. S., the European and American guidelines for treatment of HIV infection, *Medisinsky sovet*, 2017, pp. 67-72.
- De Clercq E., Non-Nucleosid Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs): Past, Present, Future, *Chem Biodivers*, 2004, pp. 44-64. DOI: 10.1002/cbdv.200490012
- USP-NF Efavirenz, 2017.
- Srilatha P., Sathish N. K., Prakash Kumar B., Quantitative determination of Efavirenz in bulk drug and formulation by colorimetry, *Pelagia Research Library*, 2014, 5(4), pp. 176-180.
- Hamarapurkar P., Phale M., Shah N., Quantitative Estimation of Efavirenz by High Performance Thin Layer Chromatography, *J. of Young Pharmacist*, 2009, pp. 359-363. DOI: 10.4103/09751483.59328
- Prathap B., Dey A., Srinivasa Rao G., Vennela S., Hussain S., Method Development and Validation of Efavirenz in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form by UV Spectrophotometer, *International Journal of innovative Pharmaceutical Research*, 2013, 4(1), pp. 269-273.
- Praveen Srivastava, Ganesh S., Robert Gross, Jeffrey S., A Sensitive and Selective Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry Method for Quantitative Analysis of Efavirenz in Human Plasma, *Plos one*. 2013, 8(6).
- Yong Huang, Monica Gandhi, Ruth M. Greenblatt, Winnie Gee, Sensitive analysis of anti-HIV drugs, efavirenz, lopinavir and ritonavir, in human hair by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2008, 22(21).
- Ramaswamy A., Smith A., Gnana Dhas A., Development and validation of analytical method for quantitation of Emtricitabine, Tenofovir, Efavirenz based on HPLC, *Arabian J. of Chemistry*, 2014.
- Gupta S., Kesarla R., Chotai N., Omri A., Development and validation of reversed-phase HPLC gradient method for the estimation of efavirenz in plasma, *Plos one*, 2017, 12(5).
- Surendra Babu C., Venu Gopal K., Ananda Reddy K., Determination of Efavirenz in tablet dosage form by using RP-HPLC, *International Journal of Chemical Science*, 2011, 9(4), pp. 1663-1668.
- Ravisankar P., Mounika G., Devadasu CH., Devala Rao G., Novel analytical method development and validation for the quantitative analysis of Efavirenz in bulk and pharmaceutical dosage forms by RP-HPLC, *The pharma innovation*, 2014.
- Bienvenu E., Hoffmann K.J., Ashton M., Kayumba P.C., A rapid and selective HPLC-UV method for the quantitation of efavirenz in plasma from patients on concurrent HIV/AIDS and tuberculosis treatments, *Biomed Chromatogr*, 2013.
- USP-NF Efavirenz tablets, 2014.
- Aladysheva J. I., Beregovyh E. E., Meshkovskiy A. P., Osnovnye principy provedeniya validacii na farmacevticheskom proizvodstve, *Russkii vrach*, 2005, 186 p.

Захода О. Ю., Садчикова Н. П., Демина Н. Б., Золотов С. А., Золотова А. С., Краснюк И. И.

19. Djakonova E. V., Sharahova O. V., Bystritskiy L.D., Metodicheskie podhody organizatsii validatsionnyh meropriyatiy na predpriyatii – proizvoditele lekarstvennyh sredstv. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Tomsk), 2009, №2, Вып. 2, pp. 94-97.

20. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii, MZ RF, XIV izd, Vol.1, GPM.1.1.0012.15. Moskva, 2018.