

Получена: 19 октября / Принята: 22 октября / Опубликовано онлайн: 25 октября 2022  
 УДК 543.544.  
 DOI 10.53511/PHARMKAZ.2022.28.84.016

**В.С. ШНАУКШТА, М.У. ДҮЙСЕНОВА, У.М. БИСЕНОВА, А.М. ЕЛЬЖАСОВА**  
 РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и  
 медицинских изделий» КМ и ФК МЗ РК, Республика Казахстан

## РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКСИТИНИБА В ПЛАЗМЕ КРОВИ МЕТОДОМ ВЭЖХ

**Резюме:** Разработана биоаналитическая методика количественного определения акситиниба (АХВ) в биологической матрице (плазма крови человека) методом осаждения белков органическим растворителем с последующим центрифугированием и хроматографическим анализом с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодноматричным детектором (DAD) Agilent 1260. Аналитический диапазон методики составил от 50 до 1000 нг/мл с коэффициентом корреляции 0,995. Разделение проводили на колонке Nucleosil C18 (250 × 4,6 мм; 5μ) при длине волны 320 нм. В качестве подвижной фазы использовали раствор Ацетонитрила – Аммония ацетат – Метанол (20:30:50) с рН 4,05. Путем валидации доказана пригодность разработанной биоаналитической методики для фармакокинетических исследований.

**Ключевые слова:** акситиниб, плазма крови, ВЭЖХ, валидация.

**В. С. Шнаушта, М. У. Дүйсенова, У. М. Бисенова, А. М. Ержасова**  
 ШЖҚ "Әдерілік заттар мен медициналық бұйымдарды сараптау ұлттық орталығы" РМҚ ҚР ДСМ  
 КМ және ФК, Қазақстан Республикасы

**V.S. Shnaukshta, M.U. Duisenova, U.M. Bisenova, A.M. Yelzhasova**  
 «National Center for Expertise of Medicines and Medical Devices»  
 of the Committee for Medical and Pharmaceutical Control  
 of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan

**АКСИТИНИБТІ САНДЫҚ АНЫҚТАУ ӘДІСТЕМЕСІН ӨЗІРЛЕУ ЖӘНЕ ВАЛИДАЦИЯЛАУ  
 HPLC ӘДІСІМЕН ҚАН ПЛАЗМАСЫНДА**

**DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A BIOANALYTICAL  
 TECHNIQUE FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION  
 OF AXITINIB IN HUMAN PLASMA BY HPLC**

**Түйін:** биологиялық матрицада (адам қанының плазмасы) акситинибті (АХВ) органикалық еріткішпен ақуызды тұндыру әдісімен сандық анықтаудың биоаналитикалық әдісі жасалды, содан кейін Центрифугалау және Agilent 1260 диодноматрицялық детекторы (DAD) бар жоғары тиімді сұйық хроматография арқылы хроматографиялық талдау жасалды. Әдістеменің аналитикалық диапазоны 0,995 корреляция коэффициентімен 50-ден 1000 нг/мл-ге дейін болды. Бөлу Nucleosil C18 (250 × 4,6 мм; 5μ) бағанында 320 нм толқын ұзындығында жүргізілді. Жылжымалы фаза ретінде рН 4,05 болатын ацетонитрил – аммоний ацетат – Метанол (20:30:50) ерітіндісі қолданылды. Валидация арқылы фармакокинетикалық зерттеулер үшін әзірленген биоаналитикалық Әдістеменің жарамдылығы дәлелденді.

**Түйінді сөздер:** акситиниб, қан плазмасы, HPLC, валидация.

**Resume.** A bioanalytical technique based on the quantitative determination of axitinib (AXB) in a biological matrix (human blood plasma) by protein precipitation in an organic solvent followed by centrifugation and chromatographic analysis using Agilent 1260 high-performance liquid chromatography with a diode array detector (DAD) was developed. The analytical range of the technique was 50 to 1000 ng/ml in plasma, and the correlation was found to be 0.995. The separations were carried out on a Nucleosil C18 column (250 × 4.6 mm; 5μ) with UV detection at 320 nm. A solution of acetonitrile-ammonium acetate-methanol (20:30:50) with a pH of 4.05 was used as the mobile phase. The validation proved the suitability of the developed bioanalytical methodology for pharmacokinetic studies.

Developed technique for quantitative determination of AXB in human plasma HPLC with diode matrix detection is simple in performance meets the requirements of validation characteristics and allows reliable determination of axitinib in blood plasma in concentrations from 50.0 ng/ml to 1000.0 ng/ml. The lower limit for quantification of AXB was 50 ng/ml. Correctness and precision of the results of the analysis were observed in the whole range of tested concen-

## ВВЕДЕНИЕ

Акситиниб – это противоопухолевое средство, селективный ингибитор тирозинкиназы рецепторов фактора роста эндотелия сосудов (VEGFR)-1, VEGFR-2 и VEGFR-3, участвующих в механизмах патологического ангиогенеза, опухолевого роста и метастазирования злокачественных новообразований. Было показано, что акситиниб обеспечивает мощное ингибирование VEGF-опосредованной пролиферации и выживаемости клеток эндотелия. Также показано, что Акситиниб ингибирует фосфорилирование VEGFR-2 в сосудах ксенотрансплантатов злокачественных новообразований, экспрессирующих рецепторы-мишени *in vivo* и обеспечивает замедление опухолевого роста, регресс и ингибирование метастазирования многих экспериментальных моделей злокачественных новообразований. Структурная формула Акситиниба приведена на рисунке 1.

Методами определения акситиниба в плазме крови являются ВЭЖХ с УФ- детектированием [9-11] и ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием [12-13]. Метод ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием обладает высокой чувствительностью, однако является дорогостоящим. Основными преимуществами метода ВЭЖХ-УФ являются более низкая стоимость в сравнении с ВЭЖХ-МС, простота и доступность, что позволяет применять его в фармакокинетических исследованиях. В связи с этим, целью данной работы являлась разработка биоаналитической методики, предназначенной для количественного определения акситиниба в плазме крови с ее последующей валидацией для выполнении исследований биоэквивалентности. Валидация методики количественного определения акситиниба в плазме крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) проводилась в лаборатории фармако-

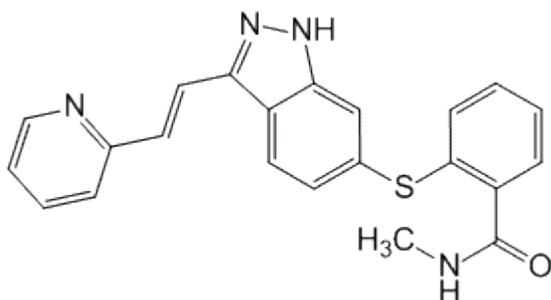


Рисунок 1 - Структурная формула акситиниба

trations (50-750 ng/ml) taking into account the criterion of acceptability. Stability of the analyte was proved for all storage conditions. The studies prove that the developed method of quantitative determination of AXB content in blood plasma is reproducible and allows obtaining reliable results.

**Keywords:** Axitinib, blood plasma, HPLC, validation.

логических испытаний ТФ Алматы РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и медицинских изделий» КМ и ФК МЗ РК. Процедура валидации выполнена на образцах, полученных методом осаждения белков плазмы крови, содержащей акситиниб (SNS Pharm, Индия)

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали следующие реактивы: метанол для ВЭЖХ (Honeywell, Германия), ацетонитрил для ВЭЖХ (Honeywell, Германия), аммония ацетат (х.ч.), кислоту уксусную (Индия). Хроматографическое разделение осуществляли на колонке Nucleosil размером 250 x 4.6 mm, заполненной обращенно-фазовым сорбентом C18 с размером частиц 5µm при температуре 250С. Количественное определение акситиниба в плазме крови проводили с использованием системы ВЭЖХ Agilent 1260, США с диодноматричным детектором G7115A. Сбор и обработку данных выполняли при помощи программного обеспечения ChemStation Edition, Agilent Technologies, США.

В процессе подготовки проб использовали вихревую мешалку Heidolph Multi Reax, Германия, центрифугу с охлаждением Eppendorf 5415R (Германия). Взятие навесок осуществляли на аналитических весах Sartorius, Германия. Дозирование реактивов и биоматериала по объему осуществляли с помощью дозаторов Eppendorf и Sartorius (Германия) 20-200 мкл и 100 - 1000 мкл.

Для построения калибровочных кривых и проведения валидационных испытаний были приготовлены образцы с заданным содержанием акситиниба в плазме крови, полученной из Центра переливания крови г.Алматы. Калибровочные стандарты и образцы QC готовили независимо с использованием индивидуально приготовленных концентрированных и рабочих растворов образцов исследуемого аналита. Исходный водный раствор акситиниба с концентрацией 10 мг/мл готовили растворением соответствующей навески. Рабочие растворы акситиниба готовили разбавлением промежуточных растворов в диапазоне концентраций 50-1000 нг/мл.

Исследуемые образцы плазмы крови перед анализом размораживали до температуры окружающей среды (21 ± 3 °С). После разморозки исследуемые образцы в количестве 400 мкл переносили с помощью автоматического дозатора в микропробирки вместимостью 2,0 мл. Для осаждения белков в каждую микропробирку с исследуемым образцом добавляли 1000,0 мкл ацетонитрила для хроматографии и перемешивали на вих-

ревой мешалке Heidolph Multi Reax в течение двух минут. Микропробирки с исследуемыми образцами центрифугировали в течение 10 минут при 13200 об/мин и надосадочную жидкость в количестве 500 мкл переносили в сухие виалы для хроматографического анализа. Состав аналитического цикла и условия режима элюирования представлены ниже.

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

Валидацию методики количественного определения акситиниба в плазме крови методом ВЭЖХ проводили в соответствии с требованиями руководств FDA, EMA, GLP OECD и ЕАЭС [1-8] по следующим характеристикам: селективность, линейность, правильность и прецизионность, нижний предел количественного определения (НПКО), перенос проб, стабильность аналита в биологической матрице на протяжении всего периода хранения и в условиях обработки. Применение колонки Nucleosil C18, 5µm размером 250 x 4.6mm, заполненной обращенно-фазовым сорбентом C18 с размером частиц 5µm, позволило получить удовлетворительную форму пиков для акситиниба. Хроматографическая система считалась пригодной при выполнении следующих критериев: относительное стандартное отклонение площади определяемых пиков, рассчитанное по шести последовательным хроматограммам раствора одной концентрации – не более 7 %; фактор асимметрии пиков акситиниба – не более 2,2; эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику АХВ – не менее 1000 теоретических тарелок; соотношение сигнал/шум для раствора на уровне нижнего предела количественного

определения (НПКО) не менее 10:1. Хроматограммы АХВ с концентрацией в плазме на уровне НПКО (50 нг/мл в плазме) представлены на рис. 2.

При оценке селективности с целью определения степени влияния эндогенных компонентов крови на хроматографирование, были проанализированы образцы плазмы крови от шести различных доноров без содержания акситиниба. На полученных хроматограммах отсутствовали пики, совпадающие со временем удерживания пиков акситиниба (рисунок 1).

Для оценки линейности была построена калибровочная кривая, для которой использовали рабочие стандартные растворы всего диапазона концентраций в двух повторностях (рисунок 2)

Определяемый в плазме крови акситиниб позволил получить линейную калибровочную кривую в диапазоне концентраций от 50 нг/мл до 1000 нг/мл с коэффициентом корреляции R2 равным 0,99542, что удовлетворяет критерию приемлемости (не менее 0,97). Относительное стандартное отклонение (RSD, %) для каждой из концентраций соответствовал критериям приемлемости – не более 20% для раствора нижнего предела количественного определения и не более 15% для остальных концентраций (таблица 3).

Оценку правильности и прецизионности методики проводили в трех циклах (три серии хроматографического определения) в различные дни. Каждый цикл состоял из пяти образцов каждой из пяти концентраций АХВ в модельных образцах: НПКО (LLOQ), тройная величина НПКО (LQC), образец контроля качества со средним содержанием исследуемого аналита (MQC) и образец

Таблица 1 - Состав аналитического цикла (АЦ) методики количественного определения АХВ в биологических образцах плазмы крови человека

№	АЦ
1	Мобильная фаза
2	Бланк плазма ВМ (Холостой образец биологической матрицы (плазмы крови человека) без содержания исследуемого аналита)
3	Калибровочные образцы, начиная с образца с наименьшей концентрацией и дальше в возрастающем порядке
4	Бланк-плазма – ВМ
5	Образцы контроля качества (образцы QC) с содержанием исследуемого аналита на трех концентрационных уровнях (низком, среднем и высоком)

Таблица 2 - Условия режима элюирования

Параметры ВЭЖХ	Описание
Длина волны	320 нм
Аналитическая колонка	Колонка Nucleosil C18, 5µm 250 x 4.6mm; температура 25±0,5°C
Состав подвижной фазы	Ацетонитрил - 20mM аммоний ацетат- метанол (20:30:50), pH 4,0
Скорость потока	1мл/мин, время анализа 15 мин время после анализа 3,0 мин
Объем пробы	100,0 мкл
Обмыва иглы	Растворы для обмыва иглы S1 (CH3CN – H2O (20:80))
Обмыва плунжеров	Растворы для обмыва плунжеров P1 (CH3CN – H2O (20:80)).
Температура в автосамплере	(8 ± 2) °C

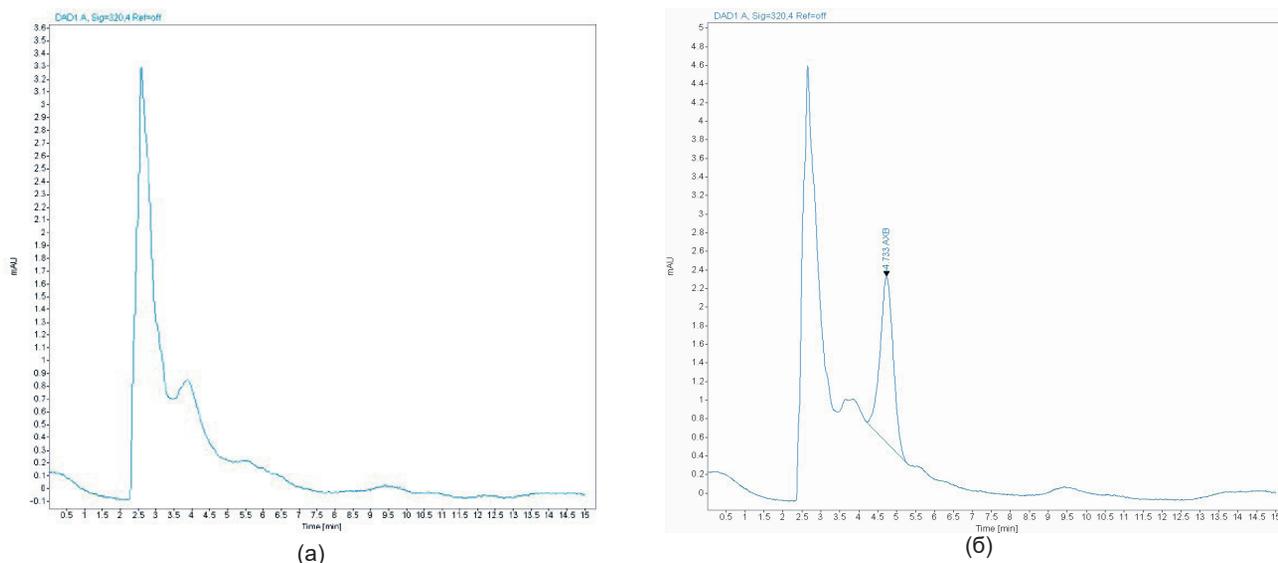


Рисунок 2 - Хроматограммы холостого образца плазмы крови (а) и образца плазмы крови, содержащего Ацетиниб в концентрации 750 нг/мл (б)

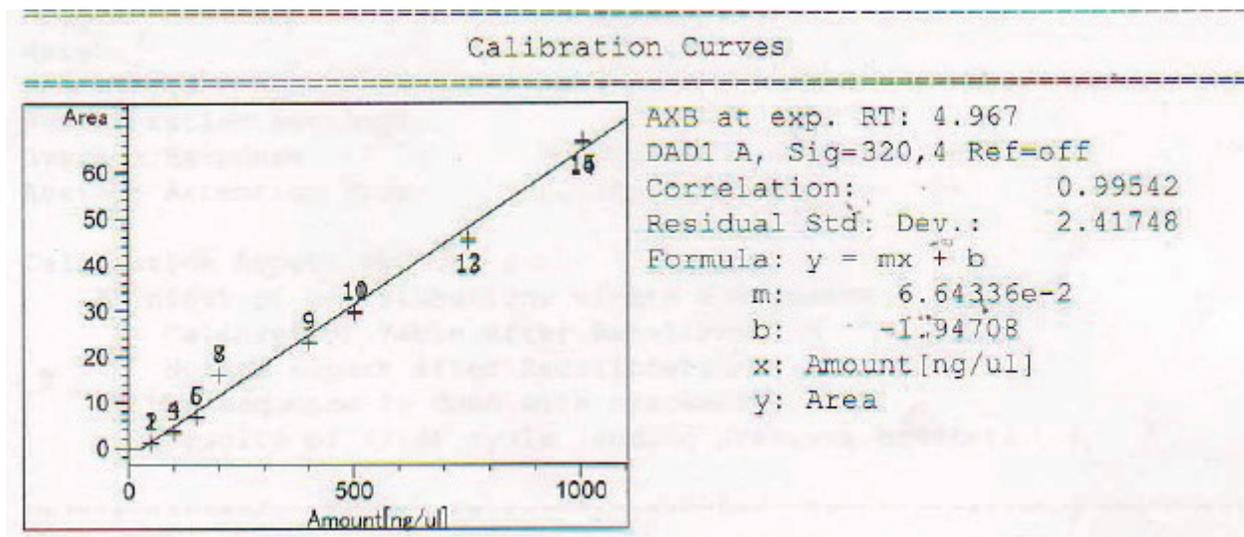


Рисунок 3 – Линейность методики количественного определения ацетиниба в диапазоне концентраций от 50 нг/мл до 1000 нг/мл

Таблица 3 - Результаты анализа по параметру «Калибровочная кривая» для АХВ в диапазоне от 50 до 1000 нг/мл

С, нг/мл	С <sub>найд.</sub> нг/мл	С <sub>сред.</sub> нг/мл $\bar{X}$	δ %	Критерий приемлемости  δ , %
50,0	46,80	48,20	-4,07	δ  ≤ 20% Удовлетворяет
	49,50			
150,0	131,48	131,06	-13,04	δ  ≤ 15% Удовлетворяет
	130,64			
400,0	376,25	429,53	6,87	δ  ≤ 15% Удовлетворяет
	482,8			
500,0	477,07	474,21	-5,59	δ  ≤ 15% Удовлетворяет
	471,34			
750,0	716,52	711,72	-5,56	δ  ≤ 15% Удовлетворяет
	706,91			
1000,0	1027,54	1032,44	2,75	δ  ≤ 15% Удовлетворяет
	1037,34			

контроля качества с высоким содержанием исследуемого аналита (не менее 75% ВПКО (НҚС)), рассчитывая при этом количественное содержание по градуировочному графику. Для полученных значений концентраций были рассчитаны величины относительного стандартного отклонения (SD, %) , относительной погрешности ( $\delta$ , %) и коэффициента вариации (CV, %), приведенные в таблице 4.

Полученные результаты по оценке правильности и прецизионности методики количественного определения акситиниба в плазме крови показали, что разработанная методика удовлетворяет вышеуказанным критериям приемлемости.

Изучение стабильности проводили для того, чтобы гарантировать, что каждый этап исследования, от приго-

товления образца до анализа, так же, как и использованные условия хранения, не оказывают существенного влияния на концентрацию исследуемого аналита. Оценку стабильности проводили на образцах плазмы крови, содержащих акситиниба в двух концентрациях 150 нг/мл и 750 нг/мл. Образцы в растворенном виде помещали в различные условия хранения: в течение 5 ч при комнатной температуре; после трёх циклов замораживания/оттаивания (замораживание при температуре не выше -70 °С, оттаивание при комнатной температуре); после пробоподготовки в течение 48 ч при температуре (8,0±5)°С; свежеприготовленные образцы из той же серии анализировали сразу после приготовления (таблица 5).

Таблица 4 - Правильность и прецизионность методики определения акситиниба в плазме

Уровень концентрации раствора	Цикл 1			Цикл 2		Цикл 3	
	C нг/мл	C <sub>найд</sub> нг/мл	CV <sub>s</sub> , %	C <sub>найд</sub> нг/мл	CV <sub>s</sub> , %	C <sub>найд</sub> нг/мл	CV <sub>s</sub> , %
LLOQ	50	49,1	4,8	45,58	4,43	47,58	5,82
		48,7		45,82		52,12	
		52,2		41,9		49,66	
		53,4		45,91		51,56	
		54,1		47,26		45,21	
LQC	150	139,27	3,43	126,39	3,42	125,96	4,45
		133,74		136,08		138,07	
		130,35		134,16		124,5	
		140,72		130,13		128,29	
		131,58		137,46		124,4	
MQC	500	529,24	9,95	401,68	1,33	401,03	1,51
		646,74		400,25		403,79	
		519,87		415,03		405,33	
		528,26		413,83		399,74	
		522,26		415,41		413,77	
HQC	750	976,8	9,62	788,59	0,92	785,43	1,66
		773,74		782,3		785,7	
		786,12		788,77		802,17	
		885,98		777,26		796,8	
		867,37		796,27		817,4	

Таблица 5 - Стабильность свежеприготовленных модельных образцов АХВ

Уровень концентрации раствора	LQC	HQC
C (нг/мл)	150,0	750,0
C <sub>найд</sub> (нг/мл)	140,24	821,58
	146,78	806,97
	134,68	797,76
	141,82	806,31
	137,40	797,17
$\bar{X}$	140,18	805,96
$\delta$ , %	-6,54	7,46
Критерий приемлемости $ \delta $ , %	< 15	< 15
<b>Вывод</b>	<b>Удовлетворяет</b>	<b>Удовлетворяет</b>

Таблица 6 - Результаты оценки кратковременной стабильности АХВ (5 ч при комнатной температуре)

Уровень концентрации раствора	LQC	HQC
C (нг/мл)	150,0	750,0
C <sub>найд</sub> (нг/мл)	130,85	791,72
	141,47	786,76
	138,14	788,00
	139,03	783,90
	139,26	866,23
$\bar{X}$	137,75	803,32
$\delta$ , %	-8,17	7,11
Критерий приемлемости $ \delta $ , %	< 15	< 15
<b>Вывод</b>	<b>Удовлетворяет</b>	<b>Удовлетворяет</b>

Таблица 7 - Результаты оценки стабильности АХВ после трёх циклов замораживания/оттаивания (замораживание при температуре -70 °С, оттаивание при комнатной температуре)

Уровень концентрации раствора	LQC	HQC
C (нг/мл)	150,0	750,0
C <sub>найд</sub> (нг/мл)	145,06	796,59
	129,90	777,06
	143,21	791,40
	150,36	784,81
	140,64	784,05
$\bar{X}$	141,83	786,78
$\delta$ , %	-5,44	4,90
Критерий приемлемости $ \delta $ , %	< 15	< 15
<b>Вывод</b>	<b>Удовлетворяет</b>	<b>Удовлетворяет</b>

Таблица 8 - Результаты оценки стабильности АХВ после пробоподготовки в течение 48,0 ч при температуре (8,0±5)°С

Уровень концентрации раствора	LQC	HQC
C (нг/мл)	150,0	750,0
C <sub>найд</sub> (нг/мл)	137,40	791,76
	146,26	802,92
	143,94	807,73
	148,09	1247,23
	131,73	798,16
$\bar{X}$	141,48	889,56
$\delta$ , %	-5,68	14,61
Критерий приемлемости $ \delta $ , %	< 15	< 15
<b>Вывод</b>	<b>Удовлетворяет</b>	<b>Удовлетворяет</b>

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная методика количественного определения АХВ в плазме крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием простата в исполнении, соответствует требованиям валидационных характеристик и позволяет достоверно определять акситиниб в плазме крови в концентрациях от 50,0 нг/мл до 1000,0 нг/мл. Нижний предел количественного опре-

деления АХВ составил 50 нг/мл. Правильность и прецизионность результатов анализа с учётом критериев приемлемости соблюдались во всем интервале исследуемых концентраций (50–750 нг/мл). Стабильность анализа доказана по всем условиям хранения. Проведенные исследования доказывают, что разработанная методика количественного определения содержания АХВ в плазме крови воспроизводима и позволяет получить достоверные результаты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 «OECD Principles on Good Laboratory Practice» OECD Principles and Guidance for Compliance Monitoring – OECD, ENV/MC/CHEM(98)17
- 2 «Правила надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств», № 81 от 3 ноября 2016 г.
- 3 «Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза», № 85 от 3 ноября 2016 г.
- 4 Приказ и.о. Министра здравоохранения Республики Казахстан от 4 февраля 2021 года № ҚР ДСМ-15 «Об утверждении надлежащих фармацевтических практик» МЗ РК.
- 5 CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1/Corr\*\*. Guideline on the Investigation of Bioequivalence (20 January 2010)
- 6 Additional guidance for organization performing in vivo bioequivalence studies (WHO TRS 1 937, 2006, Annex 9)
- 7 Guideline on bioanalytical method validation. – EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev.1 Corr.2\*\* – EMA , 2015
- 8 FDA Guidance for Industry “Bioanalytical Method validation” (May 2018) / FDA Руководство для промышленности «Валидация Биоаналитических методов» (Май 2018)
- 9 M. Sunil1, A. Ramanjaneyulu, A. Harshavardhan, P. Suvarna Raj, N. Manikya Bai, T. Aswani. Determination, Development and Validation of Method for Simultaneous AXITINIB Pharmaceutical Dosage form by a Reverse Phase HPLC\ Mat Journals. Research & Review: Drugs and Drugs Development, Volume 1 Issue 2 Page 28-42 © MAT Journals 2019.
- 10 Sagar SP, Bera VVRK, Panda N. Development and validation of a superior high performance liquid chromatographic method for quantification of Axitinib in solid oral dosage form. Am J Modern Chromatogr. 2016;3(1):33-43.
- 11 Sarada NC, Reddy BJC. Development and validation of stability indicating RP-HPLC method for the determination of Axitinib in bulk and its pharmaceutical formulations. Der Pharmacia Lettre. 2016;8(11):97-106.
- 12 Sparidans RW, Iusuf D, Schinkel, AH, Schellens JHM, Beijnen JH. Liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay for the light sensitive tyrosine kinase inhibitor Axitinib in human plasma. J Chromatogr B. 2009;877(32):4090-4096.
- 13 Yuanheng M., Jian Li, Qinghong Su, Wenjun Chen, Wei Lu, Tianyan Zhou A liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the determination of axitinib in nude mouse plasma: development, validation and application to a pharmacokinetic study. / J. Chin. Pharm. Sci. 2016, 25 (5), 342–350
- 14 Jaime Albiol-Chiva, Josep Esteve-Romero, Juan Peris-Vicente. Development of a method to determine axitinib, lapatinib and afatinib in plasma by micellar liquid chromatography and validation by the European Medicines Agency guidelines/ Journal of Chromatography B Volumes 1074–1075, 1 February 2018, Pages 61-69.
- 15 Yazdi K. Pithavala., Ying Chen., Melvin Toh., Paulina Selaru., Robert R. LaBadie., May Garrett., Brian Hee., Janessa Mount., Grace Ni., Karen J. Klamerus., Michael A. Tortorici Evaluation of the effect of food on the pharmacokinetics of axitinib in healthy volunteers / Cancer Chemother Pharmacol (2012) 70:103–112

REFERENCES

- 1 «OECD Principles on Good Laboratory Practice» OECD Principles and Guidance for Compliance Monitoring – OECD, ENV/MC/CHEM(98)17
- 2 «Pravila nadležashchej laboratornoj praktiki Evrazijskogo ekonomičeskogo soyuza v sfere obrashcheniya lekarstvennyh sredstv», № 81ot 3 noyabrya 2016 g.
- 3 «Pravila provedeniya issledovaniy bioekvivalentnosti lekarstvennyh preparatov v ramkah Evrazijskogo ekonomičeskogo soyuza», № 85 ot 3 noyabrya 2016 g.
- 4 Prikaz i.o. Ministra zdavoohraneniya Respubliki Kazahstan ot 4 fevralya 2021 goda № ҚР ДСМ-15 «Об утверждении надлежащих фармацевтических практик» МЗ РК.
- 5 CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1/Corr\*\*. Guideline on the Investigation of Bioequivalence (20 January 2010)
- 6 Additional guidance for organization performing in vivo bioequivalence studies (WHO TRS 1 937, 2006, Annex 9)
- 7 Guideline on bioanalytical method validation. – EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev.1 Corr.2\*\* – EMA , 2015
- 8 FDA Guidance for Industry “Bioanalytical Method validation” (May 2018) / FDA Rukovodstvo dlya promyshlennosti «Validaciya Bioanaliticheskikh me-todov» (Maj 2018)
- 9 M. Sunil1, A. Ramanjaneyulu, A. Harshavardhan, P. Suvarna Raj, N. Manikya Bai, T. Aswani. Determination, Development and Validation of Method for Simultaneous AXITINIB Pharmaceutical Dosage form by a Reverse Phase HPLC\ Mat Journals. Research & Review: Drugs and Drugs Development, Volume 1 Issue 2 Page 28-42 © MAT Journals 2019.
- 10 Sagar SP, Bera VVRK, Panda N. Development and validation of a superior high performance liquid chromatographic method for quantification of Axitinib in solid oral dosage form. Am J Modern Chromatogr. 2016;3(1):33-43.
- 11 Sarada NC, Reddy BJC. Development and validation of stability indicating RP-HPLC method for the determination of Axitinib in bulk and its pharmaceutical formulations. Der Pharmacia Lettre. 2016;8(11):97-106.
- 12 Sparidans RW, Iusuf D, Schinkel, AH, Schellens JHM, Beijnen JH. Liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay for the light sensitive tyrosine kinase inhibitor Axitinib in human plasma. J Chromatogr B. 2009;877(32):4090-4096.
- 13 Yuanheng M., Jian Li, Qinghong Su, Wenjun Chen, Wei Lu, Tianyan Zhou A liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the determination of axitinib in nude mouse plasma: development, validation and application to a pharmacokinetic study. / J. Chin. Pharm. Sci. 2016, 25 (5), 342–350
- 14 Jaime Albiol-Chiva, Josep Esteve-Romero, Juan Peris-Vicente. Development of a method to determine axitinib, lapatinib and afatinib in plasma by micellar liquid chromatography and validation by the European Medicines Agency guidelines/ Journal of Chromatography B Volumes 1074–1075, 1 February 2018, Pages 61-69.
- 15 Yazdi K. Pithavala., Ying Chen., Melvin Toh., Paulina Selaru., Robert R. LaBadie., May Garrett., Brian Hee., Janessa Mount., Grace Ni., Karen J. Klamerus., Michael A. Tortorici Evaluation of the effect of food on the pharmacokinetics of axitinib in healthy volunteers / Cancer Chemother Pharmacol (2012) 70:103–112

**Авторлардың үлесі.** Барлық авторлар осы мақаланы жазуға тең дәрежеде қатысты.

**Мүдделер қақтығысы** – мәлімделген жоқ.

Бұл материал басқа басылымдарда жариялау үшін бұрын мәлімделмеген және басқа басылымдардың қарауына ұсынылмаған. Осы жұмысты жүргізу кезінде сыртқы ұйымдар мен медициналық өкілдіктердің қаржыландыруы жасалған жоқ.

**Қаржыландыру** жүргізілмеді.

**Вклад авторов.** Все авторы принимали равносильное участие при написании данной статьи.

**Конфликт интересов** – не заявлен.

Данный материал не был заявлен ранее, для публикации в других изданиях и не находится на рассмотрении другими издательствами.

При проведении данной работы не было финансирования сторонними организациями и медицинскими представительствами.

**Финансирование** – не проводилось.

**Authors' Contributions.** All authors participated equally in the writing of this article.

**No conflicts of interest** have been declared.

This material has not been previously submitted for publication in other publications and is not under consideration by other publishers. There was no third-party funding or medical representation in the conduct of this work.

**Funding** - no funding was provided.

*Сведения об авторах:*

**Шнаушта Валентина Станиславовна**, к.б.н., заведующая лаборатории фармакологических испытаний, тел.: +77077508781, e-mail: v.shnaukshata@dari.kz

**Дуйсенова Маржан Үсеновна**, специалист 1 категории лаборатории фармакологических испытаний, тел.: +77025156285, e-mail: m.duisenova@dari.kz

**Бисенова Ұлжан Мухтаровна**, специалист 2 категории лаборатории фармакологических испытаний, тел.: +77029969966, e-mail: u.bisenova@dari.kz

**Ельжасова Ания Маратовна**, специалист 2 категории лаборатории фармакологических испытаний, тел.: +77025005434, e-mail: a.elzhasova@dari.kz