



Сравнительное исследование кинетики растворения и проницаемости комбинированного препарата линаглиптина и эмпаглифлозина с использованием методологии Dissoflux™

Д. С. Щелгачева¹ , А. А. Степанова¹ , Н. С. Багаева¹ , П. А. Карпова¹ ,
Т. Н. Комаров^{1,2} , Е. А. Малашенко¹ , И. Е. Шохин¹

¹ Общество с ограниченной ответственностью «Центр Фармацевтической Аналитики» (ООО «ЦФА»). 117149, Россия, г. Москва, ул. Симферопольский бульвар, д. 8 «Центр Фармацевтической Аналитики». 117149, Россия, г. Москва, Симферопольский бульвар, д. 8

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России). 197022, Россия, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский остров, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А

✉ **Контактное лицо:** Щелгачева Дана Салаватовна. **E-mail:** d.shchelgacheva@cpha.ru

Резюме

Введение. Комбинированные препараты линаглиптина и эмпаглифлозина широко применяются для терапии сахарного диабета 2-го типа. Оба действующих вещества относятся к III классу по биофармацевтической классификационной системе (БКС) и характеризуются высокой растворимостью и низкой проницаемостью. При разработке воспроизведенных лекарственных препаратов критически важным является доказательство их терапевтической эквивалентности, для чего в рамках биовейвера проводится тест сравнительной кинетики растворения *in vitro*. Однако для препаратов III класса лимитирующей стадией абсорбции является клеточная проницаемость, что требует применения дополнительных методологий для ее оценки.

Цель. Сравнительное изучение профилей растворения и проницаемости линаглиптина и эмпаглифлозина из таблеток испытуемого комбинированного препарата и референтного препарата с использованием методологии Dissoflux™ для обоснования применимости данного подхода в оценке биофармацевтической эквивалентности.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись таблетки, покрытые пленочной оболочкой, испытуемого препарата (комбинация линаглиптина, 2,5 мг, и эмпаглифлозина, 10 мг) и референтного препарата аналогичной дозировки. Тест сравнительной кинетики растворения (ТСКР) проводили на аппарате «Лопастная мешалка» (TrustE-8 basic, Electrolab, Индия) при 50 об/мин в средах с pH 1,2; 4,5 и 6,8 (объем 500 мл). Исследование проницаемости проводили с использованием системы Dissoflux™ (Electrolab, Индия) в среде с pH 6,8 (донор) и буферном растворе с 0,05%-м твина-20 (акцептор, pH 7,4). Количественное определение действующих веществ выполняли с помощью метода ВЭЖХ-УФ с градиентным элюированием на колонке Symmetry® C18 (Waters Corporation, США).

Результаты и обсуждение. Разработанная методика ВЭЖХ-УФ показала высокую воспроизводимость и правильность. В средах с pH 1,2; 4,5 и 6,8 высвобождение действующих веществ из обеих лекарственных форм к 15-й минуте превысило 85 %, что свидетельствует об эквивалентности профилей растворения. Отношение *Flux* для линаглиптина составило 92,13 %, для эмпаглифлозина – 100,31 %.

Заключение. Показана сопоставимость профилей растворения линаглиптина и эмпаглифлозина из испытуемого и референтного препаратов во всех трех средах. Тест на проницаемость *in vitro* в системе Dissoflux™ продемонстрировал принципиальную возможность применения методологии Dissoflux™ как важнейшего вспомогательного инструмента для биофармацевтической оценки лекарственных форм на этапе разработки лекарственных препаратов.

Ключевые слова: линаглиптин, эмпаглифлозин, тест сравнительной кинетики растворения, Dissoflux, ВЭЖХ, фактор подобия, биоэквивалентность, БКС

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

© Щелгачева Д. С., Степанова А. А., Багаева Н. С., Карпова П. А., Комаров Т. Н., Малашенко Е. А., Шохин И. Е., 2026

© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026

© Shchelgacheva D. S., Stepanova A. A., Bagaeva N. S., Karpova P. A., Komarov T. N., Malashenko E. A., Shohin I. E., 2026

© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Вклад авторов. Д. С. Щелгачева, А. А. Степанова, П. А. Карпова, Т. Н. Комаров участвовали в разработке методики, а также в проведении аналитической части исследования. Н. С. Багаева выполняла статистическую обработку данных. И. Е. Шохин и Е. А. Малашенко отвечали за научно-организационную часть исследования. Все вышеуказанные авторы участвовали в обсуждении полученных результатов в форме научной дискуссии.

Для цитирования: Щелгачева Д. С., Степанова А. А., Багаева Н. С., Карпова П. А., Комаров Т. Н., Малашенко Е. А., Шохин И. Е. Сравнительное исследование кинетики растворения и проницаемости комбинированного препарата линagliптина и эмпaглифлозина с использованием методологии Dissoflux™. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(4). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-4-2434>

Поступила в редакцию: 06.07.2026

Поступила после рецензирования: 14.08.2026

Принята к публикации: 18.09.2026

Comparative study of dissolution kinetics and permeability of a combination product of linagliptin and empagliflozin using Dissoflux™ methodology

Dana S. Shchelgacheva¹✉ , Alexandra A. Stepanova¹ , Natalia S. Bagaeva¹ ,

Polina A. Karpova¹ , Timofey N. Komarov^{1,2} , Evgeniya A. Malashenko¹ , Igor E. Shohin¹ 

¹ Limited Liability Company "Center of Pharmaceutical Analytics" (LLC "CPHA"). 8, Simferopol Boulevard, Moscow, 117149, Russia

² Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (SPCPU). 14A, Professora Popova str., Aptekarsky Ostrov Municipal Okrug, Saint Petersburg, 197022, Russia

✉ **Corresponding author:** Dana S. Shchelgacheva. **E-mail:** d.shchelgacheva@cpha.ru

Abstract

Introduction. Combination products of linagliptin and empagliflozin are widely used for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Both active substances belong to class III of the Biopharmaceutical Classification System (BCS), characterized by high solubility and low permeability. In the development of generic medicinal products, demonstration of therapeutic equivalence is critical; for this purpose, a comparative *in vitro* dissolution kinetics test is conducted within the framework of a biowaiver. However, for class III drugs, permeability is the rate-limiting step of absorption, necessitating the use of additional methodologies for its assessment.

Aim. Comparative study of dissolution and permeability profiles of linagliptin and empagliflozin from film-coated tablets of a test combination product and a reference product using the Dissoflux™ methodology to substantiate the applicability of this approach in the assessment of biopharmaceutical equivalence.

Materials and methods. The study objects were film-coated tablets of the test product (combination of linagliptin 2.5 mg and empagliflozin 10 mg) and a reference product of identical dosage. The comparative dissolution kinetics test (CDKT) was performed using a paddle apparatus (TrustE-8 basic, Electrolab, India) at 50 rpm in media with pH 1.2, 4.5 and 6.8 (volume 500 mL). Permeability studies were conducted using the Dissoflux™ system (Electrolab, India) in pH 6.8 medium (donor) and buffer solution with 0.05 % Tween 20 (acceptor, pH 7.4). Quantitative determination of the active substances was performed by HPLC-UV with gradient elution on a Symmetry® C18 column (Waters Corporation, USA).

Results and discussion. The developed HPLC-UV method demonstrated high reproducibility and accuracy. In media with pH 1.2, 4.5 and 6.8, the release of active substances from both dosage forms exceeded 85 % by 15 minutes, indicating equivalence of dissolution profiles. The permeability test results using the Dissoflux™ methodology demonstrated comparable accumulation profiles of both active substances in the acceptor chamber. The *Flux* ratio for linagliptin was 92.13 %, and for empagliflozin 100.31 %.

Conclusion. The comparability of dissolution profiles of linagliptin and empagliflozin from the test and reference products in all three media was demonstrated. Pilot data from the permeability test *in vitro* using the Dissoflux™ system demonstrated the potential of this methodology as an ancillary tool for biopharmaceutical evaluation during drug development, although final conclusions require statistical confirmation based on no fewer than three independent replicates.

Keywords: linagliptin, empagliflozin, dissolution test, Dissoflux, HPLC, similarity factor, bioequivalence, BCS

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Dana S. Shchelgacheva, Alexandra A. Stepanova, Polina A. Karpova, Timofey N. Komarov were involved in the development of the analytical method, as well as in conducting the analytical part of the study. Natalia S. Bagaeva performed statistical data processing. Igor E. Shokhin and Evgeniya A. Malashenko were responsible for the organizational aspects of the study. All the authors mentioned participated in the discussion of the results obtained in the form of a scientific discussion.

Received: 06.07.2026

Revised: 14.08.2026

Accepted: 18.09.2026

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) является одной из наиболее значимых медико-социальных проблем современного здравоохранения, характеризующейся хронической гипергликемией и высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений, нефропатии, ретинопатии и других тяжелых последствий. По прогнозным оценкам, к 2050 году глобальная распространенность СД2 продолжит увеличиваться, что обуславливает необходимость принятия системных мер в области общественного здравоохранения [1]. Ключевыми факторами риска развития СД2 остаются избыточная масса тела и ожирение, нерациональное питание, низкая физическая активность, а также ранние факторы развития, связанные с внутриутробным программированием [2]. В связи с этим поиск и разработка новых эффективных и безопасных средств для лечения СД2, а также совершенствование существующих лекарственных форм остается одной из приоритетных задач фармацевтической науки.

Одной из наиболее востребованных комбинаций для лечения СД2 является сочетание ингибитора дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4) линаглиптина и ингибитора натрий-глюкозного котранспортера 2-го типа (НГЛТ-2) эмпаглифлозина [3, 4]. Структурные формулы действующих веществ представлены на рисунке 1.

Оба действующих вещества входят в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов и широко применяются в клинической практике как в виде монотерапии, так и в составе комбинированных лекарственных форм.

Линаглиптин является ингибитором ДПП-4, увеличивающим концентрацию активных инкретинов, что стимулирует инсулиносекрецию и подавляет выработку глюкагона. Эмпаглифлозин, в свою очередь, блокирует реабсорбцию глюкозы в почечных канальцах, способствуя выведению избытка глюкозы с мочой. Совместное применение данных препаратов обеспечивает взаимодополняющее действие, что позволяет достичь целевых показателей гликемического контроля у значительной части пациентов [4–6].

При разработке воспроизведенных лекарственных препаратов критически важным этапом является доказательство их терапевтической эквивалентности референтному препарату. В соответствии с современными регуляторными требованиями Евразийского экономического союза (ЕАЭС) для препаратов, относящихся к I и III классам по биофармацевтической классификационной системе (БКС), допускается применение биоэвивера, основанного на БКС, для лекарственных препаратов, действующее вещество которых имеет хорошую растворимость и хорошую проникающую способность (класс I по БКС) или хо-

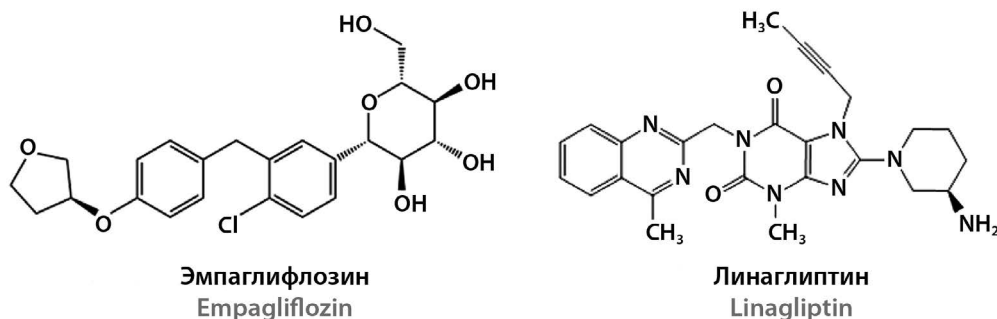


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Структурные формулы линаглиптина и эмпаглифлозина

Figure 1. Chemical structures of linagliptin and empagliflozin

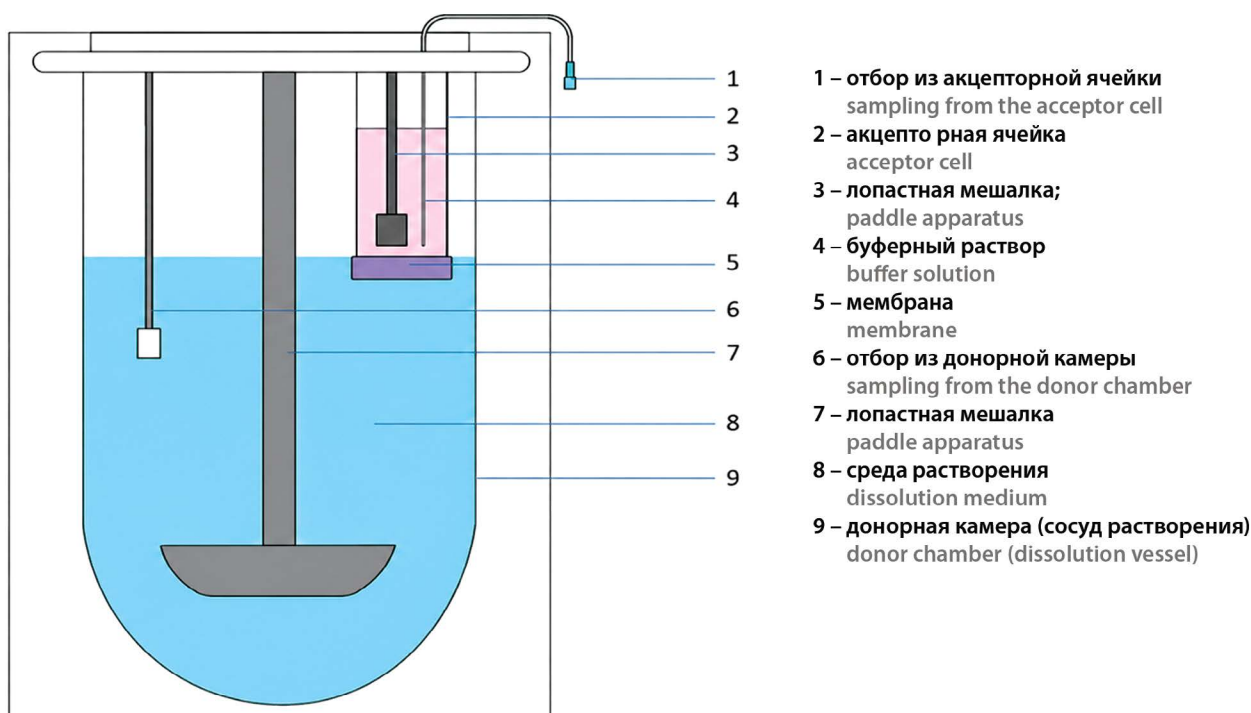


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Схема сосуда тестера растворения с камерой Dissoflux

Figure 2. Diagram of a dissolution tester vessel with a Dissoflux chamber

рошую растворимость и плохую проникающую способность (класс III по БКС)¹.

Эмпаглифлозин, согласно литературным данным, относится к III классу по БКС: он обладает высокой растворимостью, но низкой проницаемостью [7]. Линаглиптин также классифицируется как препарат III класса по БКС, характеризующийся высокой растворимостью и низкой проницаемостью [8]. Таким образом, оба действующих вещества в составе комбинированного препарата относятся к III классу БКС, что делает применение биоэвивера потенциально возможным при соблюдении установленных критериев².

Однако для соединений, характеризующихся низкой проницаемостью, лимитирующей стадией абсорбции является именно всасывание вещества через кишечный барьер, а не растворение [9, 10]. Следовательно, оценка сравнительной проницаемости становится критически важным параметром при обосновании биоэквивалентности для таких препаратов.

¹ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» (ред. от 12.04.2024) (приложение 4). Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026107> Ссылка активна на 14.08.2026.

² European Medicines Agency. Jardiance: EPAR – Public assessment report. EMA/CHMP/137741/2014. London: EMA; 2014.

В настоящее время для более комплексной оценки биофармацевтических свойств лекарственных средств применяются методологии, позволяющие не только оценить кинетику растворения действующих веществ, но и смоделировать их прохождение через биологические мембраны. Современные системы растворимости – проницаемости (dissolution-permeation), такие как MacroFLUX™, BioFLUX™, PermealLoop™ и Dissoflux™, позволяют одновременно проводить тест «Растворение» и оценивать проницаемость активных фармацевтических ингредиентов через липидную мембрану, моделирующую кишечный барьер [11, 12].

Система Dissoflux™ (Electrolab, Индия) представляет собой интегрированную установку, сочетающую стандартный тестер растворения с дополнительной акцепторной камерой, отделенной от донорной камеры (сосуда растворения) липидной мембраной. Схематическое устройство системы представлено на рисунке 2.

Донорная камера содержит среду растворения с тестируемым лекарственным препаратом, в которой проводится тест сравнительной кинетики растворения с использованием лопастной мешалки или вращающейся корзинки. Акцепторная ячейка, погруженная в среду растворения, заполнена пермеационным буферным раствором, имитирующим состав межклеточной жидкости и плазмы крови. Между ка-

мерами расположена липидная мембрана, моделирующая кишечный эпителиальный барьер. Разделение донорной камеры и акцепторной ячейки преимущественно осуществляется с использованием мембраны PermeaPad® (Phabios, Германия), которая представляет собой сэндвич-структуру из двух слоев регенерированной целлюлозы, между которыми заключен слой фосфолипидов. При контакте с водной средой фосфолипиды образуют многослойные структуры, имитирующие клеточную мембрану, что обеспечивает физиологические свойства барьера и позволяет моделировать пассивную трансцеллюлярную диффузию лекарственных веществ [11]. В ходе эксперимента активные фармацевтические ингредиенты, высвободившиеся из лекарственной формы в донорной камере, диффундируют через липидную мембрану в акцепторную камеру, где их концентрацию отслеживают с помощью отбора проб в заданные временные точки¹.

Система Dissoflux™ позволяет одновременно оценивать как кинетику растворения (по изменению концентрации в донорной камере), так и проницаемость (по накоплению вещества в акцепторной камере), что дает более полную картину биофармацевтических свойств исследуемого препарата. Однако качественное сопоставление профилей накопления в акцепторной камере не позволяет количественно оценить скорость переноса вещества через мембрану. Для этого используют интегральный параметр – поток (*Flux*), который объединяет процессы растворения и проницаемости и отражает количество вещества, проходящее через единицу площади мембраны в единицу времени [13]. Расчет *Flux* позволяет не только сравнивать скорость абсорбции между различными лекарственными формами, но и прогнозировать их *in-vivo*-поведение, что особенно важно для препаратов III и IV класса класса БКС, где проницаемость является лимитирующей стадией [9, 10, 13].

Потенциал системы Dissoflux™ для оценки сравнительной проницаемости при разработке биоэквивалентных лекарственных форм был подтвержден в исследованиях, где данная методология успешно применялась для сравнения профилей проницаемости [14]. Современные системы растворимости – проницаемости, включая коммерчески доступный Dissoflux™, представляют собой новый уровень развития методологии оценки растворения и проницаемости, позволяя выйти за рамки классических фармакопейных методов².

Таким образом, целью настоящего исследования являлось сравнительное изучение профилей раство-

рения и проницаемости линаглиптина и эмпаглифлозина из таблеток испытуемого комбинированного препарата и референтного препарата в средах, моделирующих различные отделы желудочно-кишечного тракта, с использованием методологии Dissoflux™ для обоснования биофармацевтической эквивалентности исследуемых лекарственных форм.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы и стандартные образцы

В работе использовали следующие реактивы: метанол (класс «ос.ч. для градиентной ВЭЖХ», АО «ХИМ-МЕД», Россия), ацетонитрил (класс «HPLC-S Gradient Grade», Biosolve Chimie, Франция), ортофосфорная кислота (85 %, ч.д.а., ООО «Компонент-Реактив», Россия), хлористоводородная кислота (10%-й раствор, для анализа, PanReas AppliChem, Испания и Германия), натрий хлористый (х.ч., ООО «Компонент-Реактив», Россия), калий фосфорнокислый однозамещенный (х.ч., ООО «Компонент-Реактив», Россия), натрия гидроксид (х.ч., ООО «Компонент-Реактив», Россия), твин-20 (pure EP, USP (pharma grade), neoFroxx GmbH, Германия), фосфатно-солевой буферный раствор (0,01 М, pH 7,2–7,6) в таблетках (ООО «Эко-Сервис», Россия). В качестве стандартных образцов были использованы: линаглиптин (количественное содержание 99,70 %, Mylan Laboratories Limited, Индия), эмпаглифлозин (количественное содержание 99,40 %, Shandong Langnuo Pharmaceutical Co., Ltd., Китай).

Приготовление исходных и рабочих растворов

При проведении исследования были приготовлены следующие растворы:

1. *Исходный стандартный раствор линаглиптина и эмпаглифлозина.* Точную навеску СО линаглиптина растворяли в метаноле до получения в растворе концентрации 100,000 мкг/мл. Точную навеску СО эмпаглифлозина растворяли в метаноле до получения концентрации в растворе 1000,00 мкг/мл.
2. *Рабочие стандартные растворы линаглиптина и эмпаглифлозина для ТСРП и донорной ячейки теста растворения и проницаемости.* Для этого исходный стандартный раствор линаглиптина и исходный стандартный раствор эмпаглифлозина разводили соответствующей средой растворения до получения необходимых концентраций, соответствующих следующим калибровочным уровням № 1–9 и уровням контроля качества (КК): L (низкий, low), M1, M2 (средний, middle), H (высокий, high). В таблице 1 представлены концентрации в калибровочных образцах и образцах контроля качества.
3. *Рабочие стандартные растворы линаглиптина и эмпаглифлозина для акцепторной ячейки теста растворения и проницаемости.* Готовились

¹ Electrolab. Dissoflux™: instruction manual. Navi Mumbai: Electrolab; 2024. 12 p.

² ОФС 2.3.9.1. «Рекомендации по проведению испытания на растворение». Государственная фармакопея Евразийского экономического союза. 2019. Доступно по: https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/bd2/Farmakopeya-2020-t1_1.pdf Ссылка активна на 14.08.2026.

путем разведения пермеационным буферным раствором рабочих стандартных растворов линаглиптина и эмпаглифлозина для донорной ячейки в 100 раз. В таблице 1 представлены концентрации в калибровочных образцах и образцах контроля качества.

Таблица 1. Концентрации линаглиптина и эмпаглифлозина в рабочих стандартных растворах

Table 1. Concentrations of linagliptin and empagliflozin in working standard solutions

Уровень Level	Концентрация линаглиптина, мкг/мл Linagliptin concentration, µg/mL		Концентрация эмпаглифлозина, нг/мл Empagliflozin concentration, ng/mL	
	Донорная ячейка Donor chamber	Акцепторная ячейка Acceptor chamber	Донорная ячейка Donor chamber	Акцепторная ячейка Acceptor chamber
Калибровочные образцы Calibration samples				
1	0,50	0,020	1,00	0,100
2	1,00	0,040	5,00	0,150
3	2,00	0,060	10,00	0,200
4	4,00	0,080	15,00	0,250
5	6,00	0,100	20,00	0,300
6	8,00	0,130	25,00	0,350
7	10,00	0,150	30,00	0,500
8	13,00	–	35,00	–
9	15,00	–	50,00	–
Образцы контроля качества Quality control samples				
L	1,50	0,015	3,00	0,030
M1	4,80	0,048	14,00	0,140
M2	7,20	0,072	21,00	0,210
H	12,00	0,120	40,00	0,400

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Приготовление сред растворения

Среды растворения готовили в соответствии с ОФС 2.3.9.1 «Рекомендации по проведению испытания на растворение»: среду с pH 1,2 – смешением 250 мл 0,2 М раствора натрия хлорида и 425 мл 0,2 М раствора хлористоводородной кислоты с доведением водой до 1000 мл; среду с pH 4,5 – растворением 13,61 г калия дигидрофосфата в 750 мл воды, коррекцией pH 0,1 М раствором натрия гидроксида или хлористоводородной кислоты и доведением водой до метки; среду с pH 6,8 – смешением 250 мл 0,2 М раствора калия дигидрофосфата и 112 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида с доведением водой до 1000 мл. Все среды дегазировали вакуумной фильтрацией

Приготовление пермеационного буферного раствора

В качестве пермеационного буферного раствора в камере проницаемости тестера растворения – проницаемости Dissoflux™ (Electrolab, Индия) использовали 0,05%-й раствор твина-20 в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS), pH = 7,40. Для этого растворяли 5 таблеток PBS в 500 мл воды очищенной, контролировали pH с помощью 0,1 М ортофосфорной кислоты. Раствор фильтровали и дегазировали с помощью системы вакуумной фильтрации. В полученный раствор добавляли 250 мкл твина-20.

Условия проведения ТСКР и Dissoflux™

Тест сравнительной кинетики растворения проводили на тестере растворения TrustE-8 basic (Electrolab, Индия). Изучение проницаемости проводили с помощью тестера растворения – проницаемости Dissoflux™ (Electrolab, Индия). Условия проведения отображены в таблице 2.

Пробоподготовка при проведении ТСКР

В сосуды тестера растворения вливали 500 мл соответствующей среды, после достижения температуры среды 37 ± 0,5 °C в сосуды помещали по одной таблетке препарата с промежутком во времени 10 с. В каждую временную точку (в соответствии с данными в таблице 3) отбирали шприцем аликвоту объемом 5 мл. Сразу после отбора проводили восполнение среды (объем восполнения 5 мл), и фильтрацию отобранных проб через мембранный фильтр PTFE.

Пробоподготовка при проведении Dissoflux™

Пробоподготовка проводилась согласно схеме, представленной на рисунке 3. В сосуд растворения (донорную камеру) помещали среду с pH 6,8, моделирующую среду верхних отделов тонкого кишечника. В ней же проводили растворение препарата. Для имитации прохождения препарата через кишечный барьер использовали дополнительную акцепторную камеру с липидной мембраной PermeaPad®. В камеру вливали пермеационный буферный раствор (pH 7,4 + 0,05 % твина-20) и погружали камеру в среду растворения. Мембрана разделяет донорную и акцепторную камеры, моделируя кишечный эпителиальный барьер, через который диффундируют высвободившиеся активные вещества. Таблетки помещали в сосуды через каждые 10 с. Отбор проб проводили из акцепторной камеры через канюлю с помощью инсулинового шприца (объем пробы 500 мкл) во временные точки, отображенные в таблице 2. Сразу после отбора производили восполнение буферного раствора (объем восполнения 500 мкл).

Таблица 2. Условия проведения ТСРП и Dissoflux™

Table 2. Conditions of CDKT and Dissoflux™

Параметр Parameter	Условия ТСРП Conditions of CDKT	Условия Dissoflux™ Conditions of Dissoflux™
Тип аппарата Apparatus type	Лопастная мешалка Paddle apparatus	Лопастная мешалка Paddle apparatus
Скорость вращения Rotation speed	50 об/мин 50 rpm	50 об/мин – в донорной камере; 50 об/мин – в акцепторной ячейке 50 rpm – in donor chamber; 50 rpm – in acceptor chamber
Температура Temperature	37 ± 0,5 °C	37 ± 0,5 °C
Временные точки отбора, мин Sampling time points, min	5, 10, 15, 20, 30	10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150
Количество единиц препарата, помещаемых в сосуд Number of dosage units per vessel	1	1
Объем среды в сосуде Volume per vessel	500 мл 500 mL	500 мл – в донорной камере; 30 мл – в акцепторной ячейке 500 mL – in donor chamber; 30 mL – in acceptor chamber
Объем отбора образцов Sample volume	5 мл 5 mL	500 мкл 500 µL
Объем восполнения среды Replacement volume	5 мл 5 mL	500 мкл 500 µL
Среды растворения Dissolution media	Имитирующие состав ЖКТ: pH = 1,2, pH = 4,5, pH = 6,8 Simulating GI tract composition: pH 1.2; pH 4.5; pH 6.8	pH = 6,8 – в донорной камере; pH = 7,4 + 0,05 % твина-20 – в акцепторной ячейке pH 6.8 – in donor chamber; pH 7.4 + 0.05 % Tween 20 – in acceptor chamber

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка аналитической методики

Хроматографическое разделение осуществлялось с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа Nexera-i LC-2040C (Shimadzu Corporation, Япония), включающего в себя градиентный насос, термостат колонок и образцов, дегазатор, автосамплер, УФ-детектор. Детектирование проводилось в ультрафиолетовом диапазоне. Обработка первичных данных проводилась с помощью программного обеспечения LabSolutions Single LC (Shimadzu Corporation, Япония).

Для хроматографического разделения использовалась колонка Symmetry® C18 100 Å, 3,5 мкм, 75 × 4,6 мм (Waters Corporation, США).

Температура термостата колонок поддерживалась на уровне 32 °C.

Элюирование проходило в градиентном режиме при постоянной скорости потока 0,90 мл/мин. В качестве подвижной фазы были использованы следующие элюенты:

1. Элюент А подвижной фазы: 0,2%-й раствор калия дигидрофосфата в воде (м/об), pH = 3,00;

2. Элюент В подвижной фазы: смесь ацетонитрила и метанола в объемном соотношении 45:55.

Градиент по составу подвижной фазы и по длине волны представлен в виде диаграмм на рисунке 4.

Объем вводимой пробы составил 10 мкл. Общее время регистрации хроматограммы: 0,00–7,50 мин. Время удерживания линаглиптина составило около 3,29 мин, время удерживания эмпаглифлозина – около 4,57 мин.

После изучения литературных источников на этапе разработки аналитической методики был сделан вывод о целесообразности использования хроматографической колонки Symmetry® C18 100 Å, 3,5 мкм, 75 × 4,6 мм (Waters Corporation, США), и необходимости подбора подвижной фазы для элюирования. В ходе разработки аналитической методики определили, что оптимальные хроматографические характеристики достигаются при градиентном элюировании и составе подвижной фазы: 0,2%-й раствор калия дигидрофосфата, pH 3,00 (элюент А), и смесь метанола и ацетонитрила в объемном соотношении 45:55 (элюент В). Хроматограмма испытуемого образца референтного препарата (точка отбора 5 мин, среда с pH 6,8) представлена на рисунке 5.

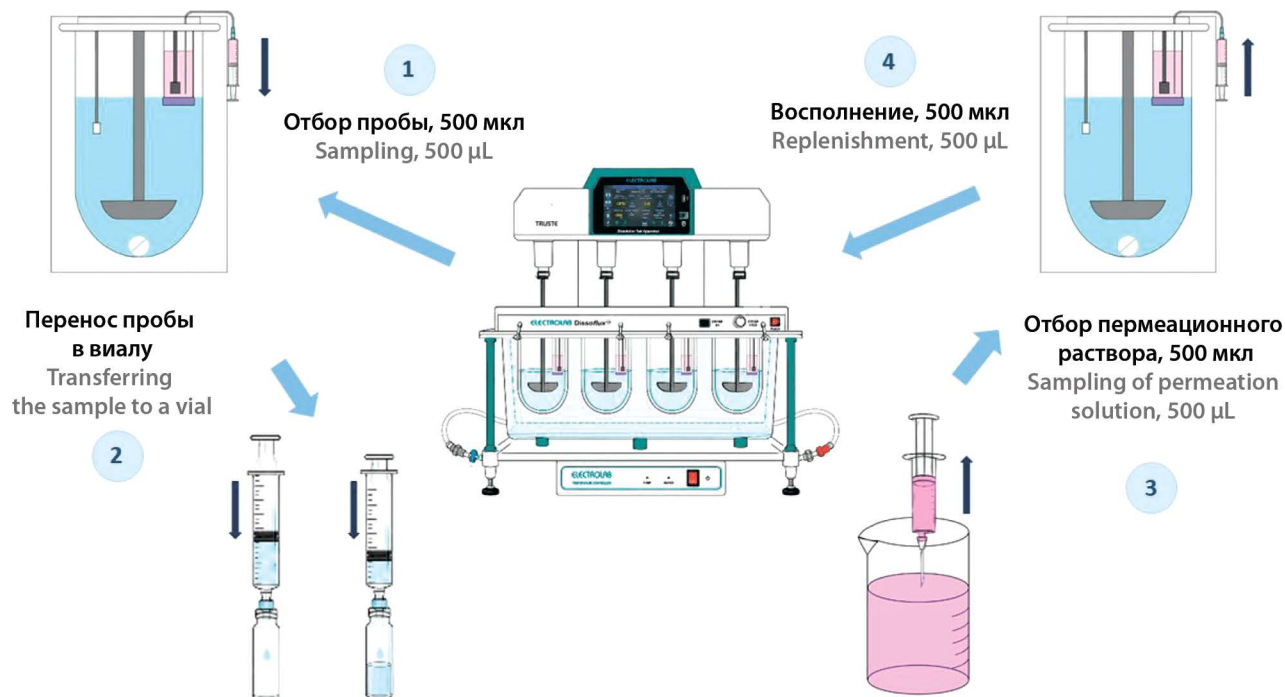


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Схема проведения растворения с помощью Dissoflux™

Figure 3. Diagram of the dissolution test using Dissoflux™

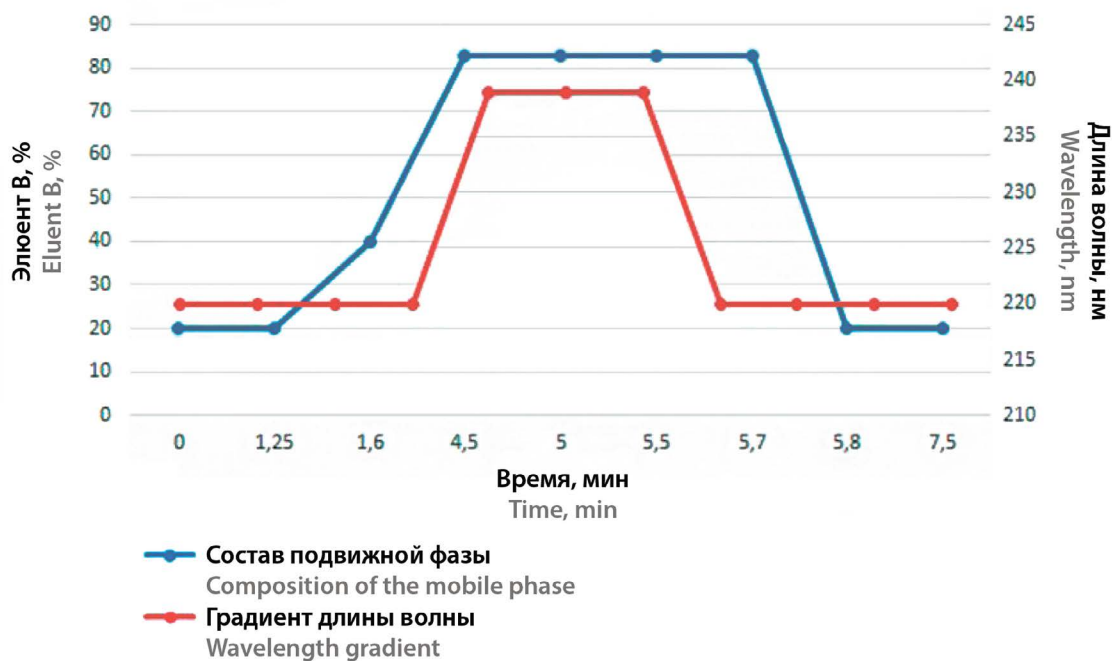


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 4. Градиенты подвижной фазы и длины волны

Figure 4. Elution and wavelength gradients

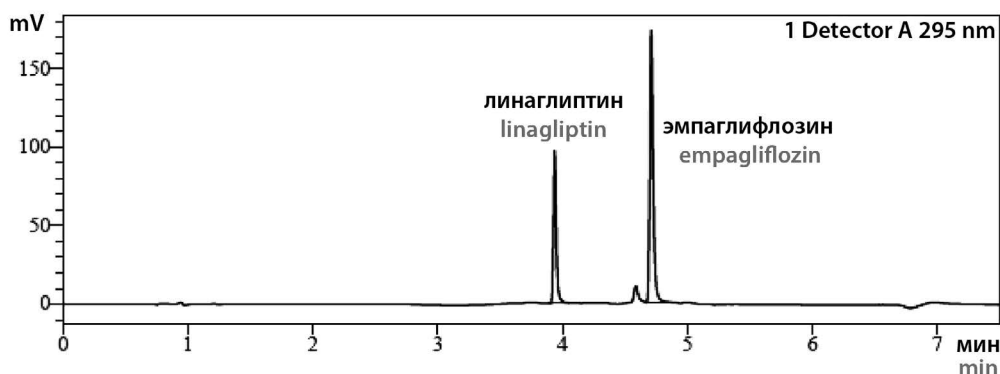


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 5. Хроматограмма испытуемого образца референтного препарата (точка отбора 5 мин, среда с pH 6,8)

Figure 5. Chromatogram of the test sample of the reference product (sampling time point 5 min, dissolution medium pH 6.8)

Пригодность хроматографической системы

Для оценки пригодности хроматографической системы использовали пробы ППХС (проверка пригодности хроматографической системы), в которых оценивали следующие параметры: время удерживания, площадь пика, кажущуюся эффективность хроматографической системы и фактор асимметрии. В каждой последовательности использовали по две пробы ППХС на уровне НПКО для линаглиптина и эмпаглифлозина. Для каждой пробы проводили три повторности анализа. Полученные результаты соответствуют критериям приемлемости (ЧТТ больше 5000; фактор асимметрии $1,0 \pm 0,5$; время удерживания: для линаглиптина примерно 3,93 мин, для эмпаглифлозина примерно 4,71; площадь пика: для линаглиптина примерно 12 300, для эмпаглифлозина – 32 000).

Правильность

Анализировались образцы, соответствующие уровням КК, представленным в таблице 1. Оценка правильности проводилась внутри каждой последовательности. Рассчитанные значения отклонения для оценки правильности находились в пределах $\pm 5\%$. Полученные данные для теста растворения и проницаемости представлены в таблице 3.

Калибровочная кривая

Проводили анализ калибровочных образцов, соответствующих калибровочным уровням, указанным в таблице 1. По полученным значениям были построены калибровочные графики в координатах «площадь пика линаглиптина (эмпаглифлозина) – концентрация линаглиптина (эмпаглифлозина)». Графики для теста растворения и проницаемости приведены на рисунках 6–7 совместно с уравнениями калибровочных

кривых и коэффициентами корреляции. Калибровочные образцы готовили на каждой из использованных сред растворения (pH = 1,2, pH = 4,5, pH = 6,8).

Таблица 3. Оценка правильности методики для теста растворения и проницаемости в донорной камере и акцепторной ячейке

Table 3. Assessment of the accuracy of the methodology for the dissolution-permeability test in donor chamber and acceptor chamber

Наименование раствора Solution name	Номинальная концентрация, мкг/мл Nominal concentration, µg/mL	Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/mL	Правильность, % Accuracy, %	Отклонение, % Deviation, %
Растворы линаглиптина в донорной ячейке, pH = 6,8 Linagliptin solutions in donor chamber, pH 6.8				
L	1,5	1,44	96,00	4,00
L	1,5	1,45	96,67	3,33
M1	4,8	4,62	96,25	3,75
M1	4,8	4,59	95,63	4,38
M2	7,2	6,87	95,42	4,58
M2	7,2	6,86	95,28	4,72
H	12	11,46	95,50	4,50
H	12	11,51	95,92	4,08
Растворы линаглиптина в акцепторной ячейке, pH = 7,4 + 0,05 % твина-20 Linagliptin solutions in acceptor chamber, pH 7.4 + 0.05 % Tween 20				
L	0,015	0,0153	102,00	2,00
L	0,015	0,0157	104,67	4,67
M1	0,048	0,0491	102,29	2,29
M1	0,048	0,0467	97,29	2,71
M2	0,072	0,0690	95,83	4,17
M2	0,072	0,0753	104,58	4,58

Наименование раствора Solution name	Номинальная концентрация, мкг/мл Nominal concentration, µg/mL	Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/mL	Правильность, % Accuracy, %	Отклонение, % Deviation, %
H	0,12	0,1155	96,25	3,75
H	0,12	0,1142	95,17	4,83
Растворы эмпаглифлозина в донорной ячейке, pH = 6,8 Empagliflozin solutions in donor chamber, pH 6.8				
L	3	3,08	102,67	2,67
L	3	3,09	103,00	3,00
M1	14	14,63	104,50	4,50
M1	14	14,61	104,36	4,36
M2	21	20,51	97,67	2,33
M2	21	20,53	97,76	2,24
H	40	41,61	104,03	4,02
H	40	41,74	104,35	4,35
Растворы эмпаглифлозина в акцепторной ячейке, pH = 7,4 + 0,05 % твина-20 Empagliflozin solutions in acceptor chamber, pH 7.4 + 0.05 % Tween 20				
L	0,03	0,0291	97,00	3,00
L	0,03	0,0296	98,67	1,33
M1	0,14	0,1442	103,00	3,00
M1	0,14	0,1412	100,86	0,86
M2	0,21	0,2010	95,71	4,29
M2	0,21	0,2198	104,67	4,67
H	0,4	0,3806	95,15	4,85
H	0,4	0,3808	95,20	4,80

Таблица предоставлена авторами

The table was provided by the authors

Name : linagliptin
Quantitative Method : External Standard
Function : $f(x) = 70102.8 \cdot x - 8245.74$
Rr1=0.9994148 Rr2=0.9988300
FitType : Linear

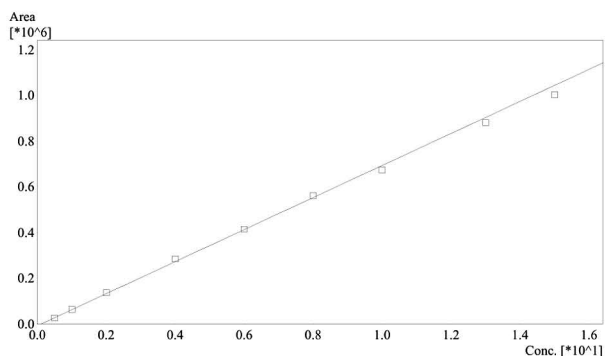


Рисунок предоставлен авторами

The figure was provided by the authors

Рисунок 6. Графики калибровочных кривых для линаглиптина и эмпаглифлозина соответственно, в донорной ячейке, pH = 6,8

Figure 6. Calibration curves for linagliptin and empagliflozin, respectively, in the donor chamber, pH = 6.8

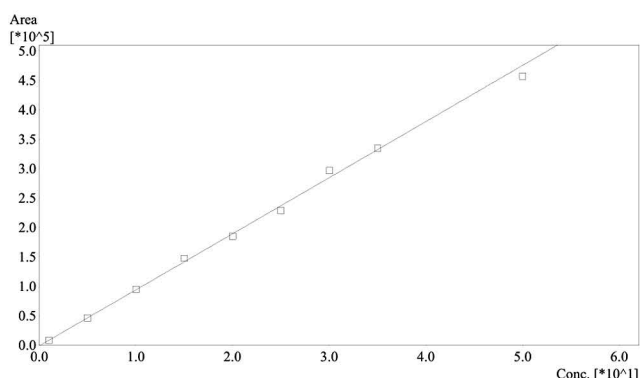
Тест сравнительной кинетики растворения

Исследование теста сравнительной кинетики растворения (ТСКР) проводили на трех средах растворения (pH 1,2; 4,5; 6,8), моделирующих физиологические условия различных отделов желудочно-кишечного тракта – желудка натошак, двенадцатиперстной кишки и тонкой кишки соответственно. Согласно литературным данным, как линаглиптин, так и эмпаглифлозин относятся к III классу по биофармацевтической классификационной системе (БКС), что характеризуется высокой растворимостью и низкой проницаемостью [7, 8]. Для препаратов III класса лимитирующей стадией абсорбции является проницаемость через кишечный барьер, а не растворение [9, 10]. В связи с этим оценка сравнительной проницаемости действующих веществ становится критически важным параметром при обосновании биоэквивалентности.

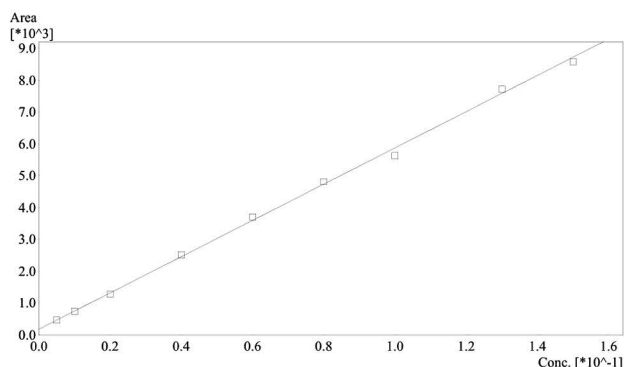
По результатам ТСКР во всех трех средах растворения к 15-й минуте в раствор переходило более 85 % активных фармацевтических ингредиентов из обеих лекарственных форм, что соответствует критериям эквивалентности профилей растворения без проведения математической оценки фактора подобия. Данный результат подтверждает высокую растворимость обоих действующих веществ, что согласуется с их принадлежностью к III классу БКС.

По мере возрастания pH среды растворения наблюдалось увеличение скорости высвобождения действующих веществ из референтного препарата: к 5-й минуте растворения в среде с pH 1,2 высвободилось 21,43 % линаглиптина и 26,97 % эмпаглифлозина; в среде с pH 4,5 – 36,07 % линаглиптина и 39,78 % эмпаглифлозина; в среде с pH 6,8 – 53,40 % линаглиптина и 47,43 % эмпаглифлозина. Наиболее полное и быстрое высвобождение наблюдалось в сре-

Name : empagliflozin
Quantitative Method : External Standard
Function : $f(x) = 9524.95 \cdot x - 954.774$
Rr1=0.9994959 Rr2=0.9989922
FitType : Linear



Name : linagliptin
Quantitative Method : External Standard
Function : $f(x) = 56940.0 \cdot x + 177.792$
Rr1=0.9994919 Rr2=0.9989840
FitType : Linear



Name : empagliflozin
Quantitative Method : External Standard
Function : $f(x) = 8999.36 \cdot x + 859.393$
Rr1=0.9996239 Rr2=0.9992480
FitType : Linear

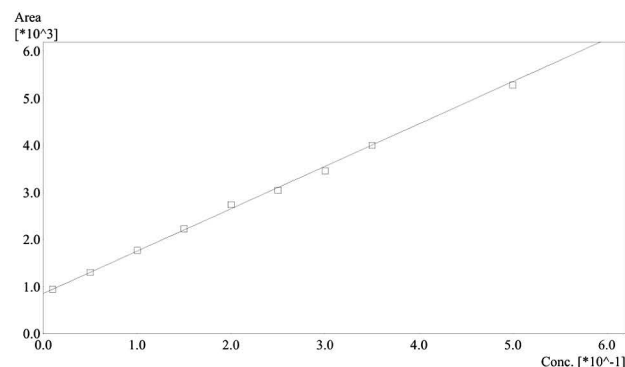


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 7. Графики калибровочных кривых для линаглиптина и эмпаглифлозина соответственно, акцепторная камера, pH = 7,4 + 0,05 % твина-20

Figure 7. Calibration curves for linagliptin and empagliflozin, respectively, acceptor chamber, pH = 7.4 + 0.05 % Tween 20

де с pH 6,8, моделирующей условия верхних отделов тонкого кишечника.

Для оценки проницаемости действующих веществ с использованием методологии Dissoflux™ была выбрана среда растворения с pH 6,8 для моделирования условий проксимального отдела тонкого кишечника, который является основной зоной всасывания для большинства перорально вводимых лекарственных препаратов [8]. Именно в тонком кишечнике благодаря нейтральной или слабощелочной среде и большой площади всасывающей поверхности реализуются оптимальные условия для пассивной диффузии и транспорта через кишечный эпителий, что критически важно для оценки проницаемости веществ III класса БКС [9, 10]. Дополнительно система Dissoflux™ предусматривает разделение донорной и акцепторной камер с использованием липидной мембраны, что позволяет моделировать процесс переноса действующего вещества через кишечный барьер в физиологических условиях, наиболее релевантных для всасывания *in vivo*. Таким образом, оценка проницаемости в среде с pH 6,8 предоставляет наиболее информативные данные для прогнозирования *in-vivo*-поведения разрабатываемой комбинированной лекарственной формы.

Профили растворения действующих веществ испытуемого и референтного препаратов в среде с pH 6,8 представлены на рисунках 8–9.

Тест растворения и проницаемости Dissoflux™

Исследование проницаемости линаглиптина и эмпаглифлозина проводили с использованием тестера растворения – проницаемости Dissoflux™ (Elect-

rolab, Индия). В качестве акцепторной среды использовали фосфатный буферный раствор с pH 7,4 и 0,05%-го твина-20. Данный состав наиболее приближен к физиологическому составу межклеточной жидкости и плазмы крови человека. Добавление твина-20 в концентрации 0,05 % обеспечивает солюбилизацию действующих веществ, предотвращает их адсорбцию на поверхностях экспериментальной системы и позволяет поддерживать необходимые условия для переноса через мембрану, при которых концентрация вещества в акцепторной камере остается значительно ниже концентрации насыщения на протяжении всего эксперимента [14, 15]. Это обеспечивает постоянный градиент концентраций между донорной и акцепторной камерами и позволяет оценивать истинную проницаемость вещества, а не скорость его растворения [13].

Длительность эксперимента в системе Dissoflux™ составляла 150 мин, что значительно превышает продолжительность классического ТСКР (30 мин для веществ, обладающих высокой растворимостью). Данный выбор обусловлен физиологическими и методическими причинами. В отличие от ТСКР, где оценивается только скорость высвобождения действующего вещества из лекарственной формы в среду растворения, тест на проницаемость требует времени для установления равновесного градиента концентраций между донорной и акцепторной камерами, а также для накопления детектируемых количеств вещества в акцепторной камере [13].

Кроме того, продолжительность эксперимента согласуется с физиологическими сроками абсорбции веществ в тонком кишечнике. Время достижения максимальной концентрации (T_{max}) для эмпаг-

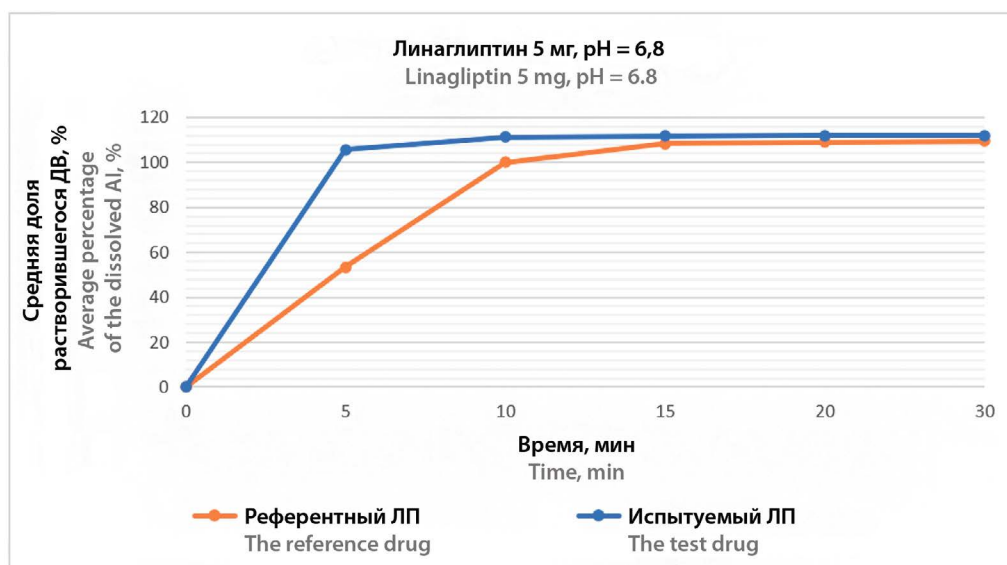


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 8. Профили растворения линаглиптина в референтном и испытуемом препаратах в среде растворения с pH = 6,8

Figure 8. Dissolution profiles of linagliptin in reference and test drugs in a dissolution medium with pH = 6.8

лифлозина составляет 1,5–2,5 ч, а для линаглиптина – около 1,5 ч. Таким образом, 150-минутный эксперимент в системе Dissoflux™ позволяет охватить период, соответствующий времени достижения пиковых концентраций обоих веществ, что делает данный

подход физиологически обоснованным для оценки их проницаемости [16, 17]

Как показано в исследованиях с применением *Flux*-ориентируемых подходов, для корректного расчета параметра *Flux* необходимо зафиксировать ли-

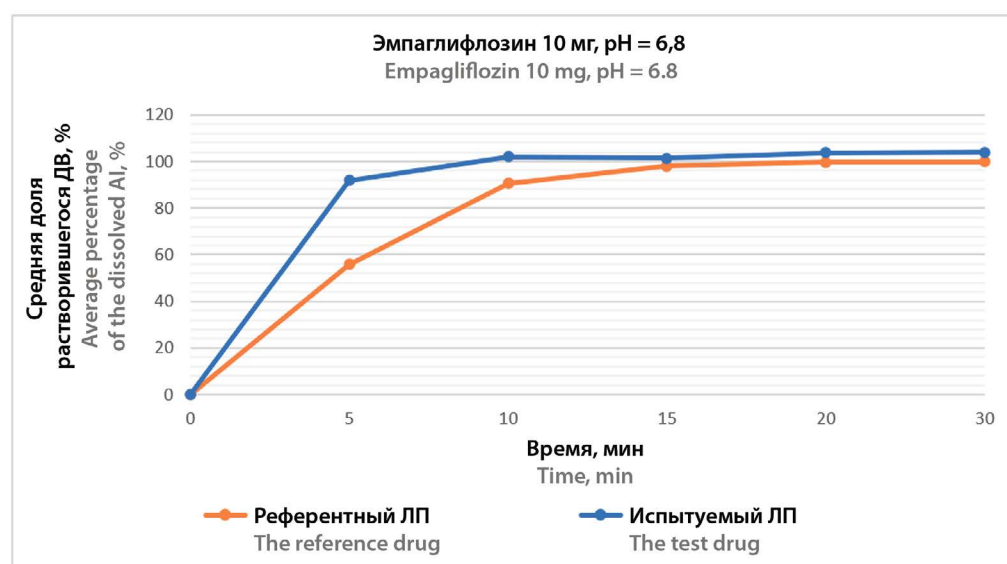


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 9. Профили растворения эмпаглифлозина в референтном и испытуемом препаратах в среде растворения с pH = 6,8

Figure 9. Dissolution profiles of empagliflozin in reference and test drugs in a dissolution medium with pH = 6.8

нейный участок накопления вещества в акцепторной камере, что требует более длительного времени наблюдения [13]. Для линаглиптина, характеризующегося низкой проницаемостью (III класс БКС), процесс переноса через липидную мембрану происходит медленно, и для достижения достоверных количественных значений концентрации в акцепторной камере требуется более длительное время наблюдения [8, 9]. Эмпаглифлозин демонстрирует более высокие значения *Flux* по сравнению с линаглиптином (таблица 4), что согласуется с данными литературы о его биофармацевтических свойствах и подтверждает его низкую проницаемость [7]. Кроме того, в реальных физиологических условиях всасывание в тонком кишечнике происходит в течение нескольких часов, поэтому 150-минутный эксперимент в системе Dissoflux™ позволяет более адекватно смоделировать этот процесс по сравнению с 30-минутным тестом растворения [14].

Профили проницаемости действующих веществ испытуемого и референтного препаратов представлены на рисунках 10–11.

Анализ профилей проницаемости (рисунки 10–11) показал, что накопление линаглиптина и эмпаглифлозина в акцепторной камере происходит линейно

в течение всего времени эксперимента, что свидетельствует о достижении стационарного состояния переноса через мембрану и соблюдении условий, необходимых для корректной оценки проницаемости. Профили проницаемости испытуемого и референтного препаратов для обоих действующих веществ практически идентичны, что подтверждает сопоставимость их биофармацевтических свойств. Полученные результаты согласуются с данными ТСКР, где также наблюдалась эквивалентность профилей растворения в среде с pH 6,8, и свидетельствуют о том, что различия в составе вспомогательных веществ между испытуемым и референтным препаратами не оказывают значимого влияния на процессы растворения и проницаемости действующих веществ.

Расчет параметра *Flux*

Ключевым параметром, характеризующим процесс переноса действующего вещества через мембрану в системе Dissoflux™, является поток (*Flux*) – интегральная характеристика, объединяющая процессы растворения и проницаемости [13]. В отличие от классического теста «Растворение», где оценивает-

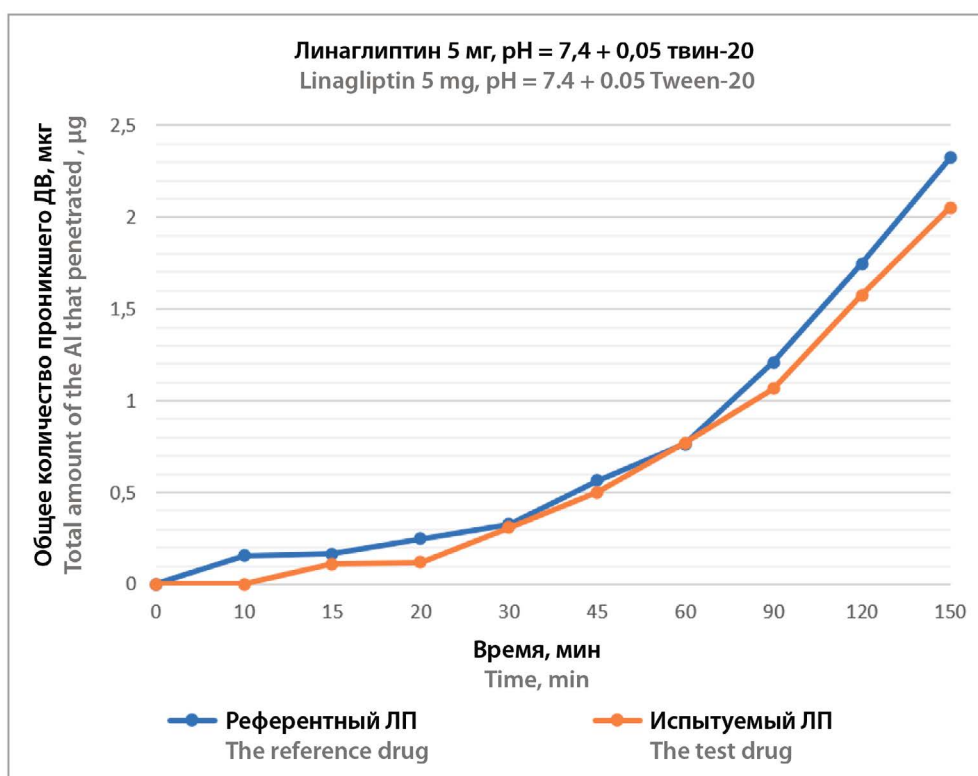


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 10. Профили проницаемости линаглиптина через мембрану для испытуемого и референтного препаратов, буферный раствор с pH = 7,4 + 0,05 % твина-20

Figure 10. Linagliptin permeability profiles through the membrane for the test and reference drugs, buffer solution with pH = 7.4 + 0.05 % Tween 20

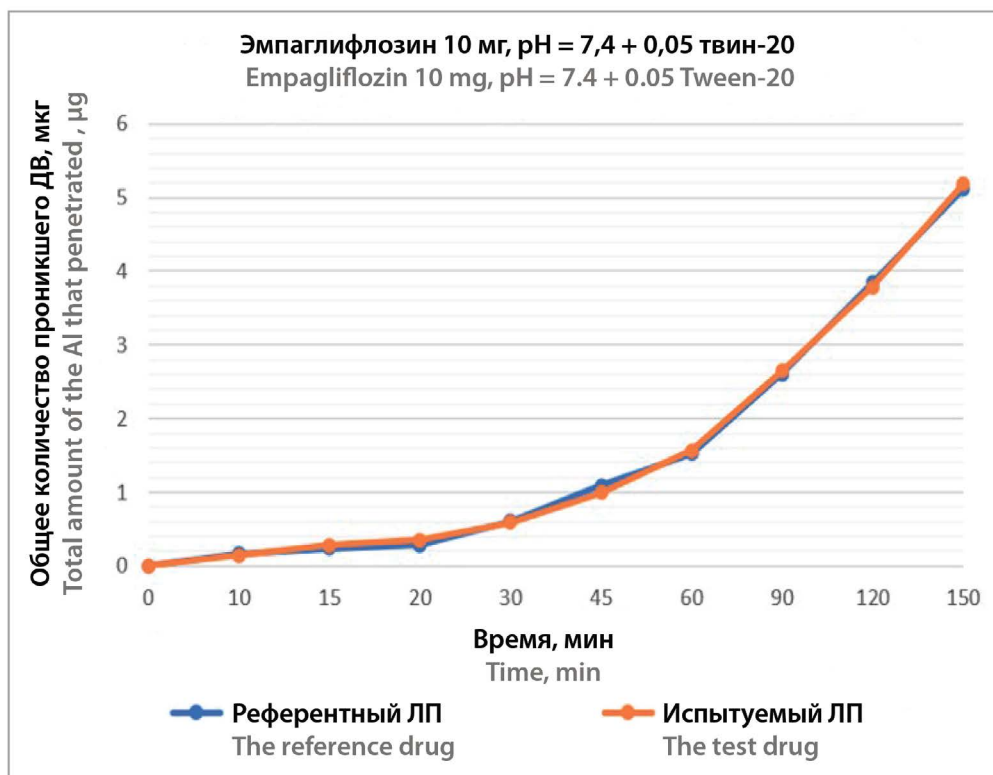


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 11. Профили проницаемости эмпаглифлозина через мембрану для испытуемого и референтного препаратов, буферный раствор с pH = 7,4 + 0,05 % твина-20

Figure 11. Empagliflozin permeability profiles through the membrane for the test and reference drugs, buffer solution with pH = 7.4 + 0.05 % Tween 20

ся только скорость высвобождения вещества из лекарственной формы, параметр *Flux* позволяет количественно оценить скорость переноса активного фармацевтического ингредиента через искусственную липидную мембрану, которая имитирует билипидный слой клеточной мембраны и позволяет оценивать вклад пассивной диффузии в процессе всасывания, что особенно важно для препаратов III класса по БКС, у которых проницаемость является лимитирующей стадией абсорбции [9, 10, 13].

Расчет *Flux* проводили по следующей формуле [11]:

$$Flux = \frac{V_A}{A} \cdot \frac{dC_A}{dt},$$

где V_A – объем акцепторной камеры (30 см³); A – площадь поверхности мембраны, через которую осуществляется перенос (4,91 см²); C_A – концентрация активного фармацевтического ингредиента в акцепторной камере; $\frac{dC_A}{dt}$ – скорость изменения концентрации вещества в акцепторной камере во времени.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программного обеспечения Microsoft Office Excel (Microsoft 365, Microsoft Corporation, США).

Сравнение значений *Flux* для испытуемого и референтного препаратов позволяет количественно оценить их биофармацевтическую эквивалентность.

Результаты расчета параметра *Flux* для линаглиптина и эмпаглифлозина представлены в таблице 4.

Согласно полученным данным, значения *Flux* для линаглиптина приблизительно в 2,5 раза уступают соответствующим показателям для эмпаглифлозина, что коррелирует с различиями в их физико-химических характеристиках [7, 8].

Отношение *Flux* для линаглиптина составило 92,13 %, что может указывать на различия в скорости мембранного переноса. Для эмпаглифлозина отношение *Flux* составило 100,31 %, что свидетельствует о практически идентичной скорости высвобождения и мембранного переноса испытуемого и референтного препаратов в условиях *in vitro*. Параметр *Flux* может быть использован для обоснования решения о проведении исследования биоэквивалентности *in vivo* с расчетом 90 % доверительных интервалов для

изучаемого показателя, а также при физиологически обоснованном биофармацевтическом моделировании (Physiologically Based Biopharmaceutics Modeling) для калибровки механистических моделей всасывания, что позволяет повысить предсказательную способность симуляций [14].

Таблица 4. Значения параметра Flux для испытуемого и референтного препаратов

Table 4. Flux parameter values for the test and reference drugs

Действующее вещество Active substance	Flux Test, мкг · мин ⁻¹ · см ⁻² Flux Test, μg · min ⁻¹ · cm ⁻²	Flux Ref, мкг · мин ⁻¹ · см ⁻² Flux Ref, μg · min ⁻¹ · cm ⁻²	Отношение Flux, % Flux ratio, %
Линаглиптин (2,5 мг) Linagliptin (2.5 mg)	0,000451	0,000489	92,13
Эмпаглифлозин (10 мг) Empagliflozin (10 mg)	0,001119	0,001116	100,31

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенного исследования была разработана методика количественного определения линаглиптина и эмпаглифлозина методом ВЭЖХ-УФ, используемая для анализа проб при проведении теста сравнительной кинетики растворения и проницаемости. Методика характеризуется высокой воспроизводимостью и правильностью: значения отклонения для всех уровней контроля качества находились в пределах ±5 %, а коэффициент корреляции калибровочных кривых превышал 0,999.

В рамках выполнения работы был проведен сравнительный анализ профилей растворения комбинированного препарата, содержащего линаглиптин и эмпаглифлозин, в средах, моделирующих различные отделы желудочно-кишечного тракта (рН 1,2; 4,5; 6,8). Установлено, что во всех трех средах к 15-й минуте теста высвобождается более 85 % от заявленного содержания действующих веществ, что в соответствии с регуляторными требованиями позволяет считать профили растворения испытуемого и референтного препаратов подобными без проведения математической оценки фактора подобия. Наиболее полное высвобождение наблюдалось в среде с рН 6,8, моделирующей условия тонкого кишечника, что послужило основанием для выбора данной среды для дальнейшего изучения проницаемости.

С использованием методологии Dissoflux™ проведена оценка проницаемости линаглиптина и эмпаглифлозина через искусственную липидную мембрану, которая имитирует билипидный слой клеточ-

ной мембраны [13]. Показано, что профили накопления обоих действующих веществ в акцепторной камере для испытуемого и референтного препаратов практически идентичны, что подтверждает сопоставимость их биофармацевтических свойств. Количественная оценка параметра Flux показала, что отношение Flux для линаглиптина составило 92,13 %, для эмпаглифлозина – 100,31 %.

Результаты проведенного исследования демонстрируют принципиальную применимость методологии Dissoflux™ как вспомогательного инструмента для биофармацевтической оценки лекарственных форм на этапе разработки лекарственных препаратов [13].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. He Q., Wu W., Chen J., Zhou H., Ding G., Lai S., Kuo A. Y. T., Wan H., Lin B., Wu H., Kong A. P. S., Guan H., Cao H. Global burden of type 2 diabetes in non-elderly individuals 1990 to 2021 and projections for 2050: a systematic analysis of the 2021 Global Burden of Disease. *Diabetes & Metabolism*. 2025;51(4):101660. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2025.101660>
2. Chen K., Zhang H., Wu N., Li B., Li S., Mu Y. Global risk factors, epidemiology, and disease burden of type 2 diabetes. *Science China. Life sciences*. 2025;69(2):384–395. <https://doi.org/10.1007/s11427-024-3036-4>
3. Nair T., Gupta S., Joshi A., Shaikh S., Jayagopal B., Pandit K., Sharma D., Seshadri K., Sridhar S., Jabbar P., Ray S., Hazra P. Abstract 4371800: 37,500 man-years of clinical expertise validate the cardio-metabolic benefits of empagliflozin-linagliptin in type 2 diabetes: findings from the amplified consensus. *Circulation*. 2025;152(Suppl_3):A4371800. https://doi.org/10.1161/circ.152.suppl_3.4371800
4. Карпушев А. В., Краснова М. В., Ивкин Д. Ю., Михайлова В. Б., Клименко Е. С., Оковитый С. В., Куликов А. Н. О возможном механизме влияния эмпаглифлозина на сердечно-сосудистую смертность. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2024;13(4):223–230. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-4-1868> [Karpushev A. V., Krasnova M. V., Ivkin D. Yu., Mikhailova V. B., Klimenko E. S., Okovityi S. V., Kulikov A. N. Possible mechanism of effect of the empagliflozin on cardiovascular mortality. *Drug development & registration*. 2024;13(4):223–230. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2024-13-4-1868>
5. Mahajan S. Effect of Empagliflozin, Linagliptin, and Their Combination on CKD Progression in Type 2 Diabetes: A Comparative Cohort Study in 50 Patients. *Canadian Journal of Diabetes*. 2025;49(7):S50.
6. Ивкин Д. Ю., Краснова М. В., Оковитый С. В., Карпов А. А., Куликов А. Н., Елецкая Е. И. Об эффективности эмпаглифлозина в терапии экспериментального инфаркта миокарда. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4):136–145. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1588> [Ivkin D. Yu., Krasnova M. V., Okovity S. V., Karpov A. A., Kulikov A. N., Yeletskaia E. I. Efficacy of Empagliflozin in the Treatment of Experimental Myocardial Infarction. *Drug development & registration*. 2023;12(4):136–145. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1588>]

7. Negoya R., Tsueoka M., Sun S., Nishida S., Abrahamsson B., Charoo N.A., Cristofolletti R., Langguth P., Mehta M., Parr A., Polli J.E., Shah V.P., Dressman J., Kambayashi A. Biowaiver monograph for immediate-release solid oral dosage forms: Empagliflozin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2025;114(12):104023. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2025.104023>
8. Pawar K., Kamble R., Patil S. Linagliptin-loaded bilosomes for oral administration: Formulation, optimization by Box-Behnken design, in-vitro, and in-vivo assessment. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2025;108:106879. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.106879>
9. Ono A., Kurihara R., Terada K., Sugano K. Bioequivalence dissolution test criteria for formulation development of high solubility-low permeability drugs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2023;71(3):213–219. <https://doi.org/10.1248/cpb.c22-00685>
10. Jacobsen A.-C., Visentin S., Butnarusu C., Stein P.C., di Cagno M.P. Commercially available cell-free permeability tests for industrial drug development: increased sustainability through reduction of in vivo studies. *Pharmaceutics*. 2023;15(2):592. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020592>
11. Tzanova M.M., Larsen B.S., Birolo R., Cignolini S., Tho I., Chierotti M.R., Perissutti B., Scaglione S., Stein P.C., Hiorth M., Di Cagno M.P. Shifting the focus from dissolution to permeation: introducing the Meso-fluidic Chip for Permeability Assessment (MCPA). *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2024;113(5):1319–1329. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2023.12.012>
12. Holzem F.L., Weck A., Schaffland J.P., Stillhart C., Klein S., Bauer-Brandl A., Brandl M. Biopredictive capability assessment of two dissolution/permeation assays, μ FLUX™ and PermeaLoop™, using supersaturating formulations of Posaconazole. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2022;176:106260. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106260>
13. Kádár S., Tózsér P., Nagy B., Farkas A., Nagy Z.K., Tsinman O., Tsinman K., Csicsák D., Völgyi G., Takács-Novák K., Borbás E., Sinkó B. Flux-based formulation development—A proof of concept study. *The AAPS Journal*. 2022;24(1):22. <https://doi.org/10.1208/s12248-021-00668-9>
14. Kollipara S., Prabhat P.K., Saha P., Gupta S., Naidu V.R., Ahmed T. Physiologically based biopharmaceutics modeling coupled with biopredictive dissolution in development of bioequivalent formulation for mesalamine enteric coated tablet: a tough nut to crack. *AAPS PharmSciTech*. 2025;26(1):1. <https://doi.org/10.1208/s12249-024-02990-9>
15. Morita T., Yoshida H., Tomita N., Sato Y. Comparison of in vitro screening methods for evaluating the effects of pharmaceutical excipients on membrane permeability. *International Journal of Pharmaceutics*. 2024;669:124727. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.124727>
16. Hailat M., Zakaraya Z., Al-Ani I., Meanazel O.A., Al-Shdefat R., Anwer M.K., Saadh M.J., Abu Dayyih W. Pharmacokinetics and Bioequivalence of Two Empagliflozin, with Evaluation in Healthy Jordanian Subjects under Fasting and Fed Conditions. *Pharmaceutics*. 2022;15(2):193. <https://doi.org/10.3390/ph15020193>
17. Li Y., Zhang X., Qi L., Tong Y., Bai H., Liu J., Liu Y., Chen Y., Wang X. Pharmacokinetics and Bioequivalence of Single-Oral-Dose Linagliptin: A Randomized, 2-Period Crossover Trial in Chinese Healthy Subjects Under Fasting and Fed Conditions. *Clinical Pharmacology in Drug Development*. 2022;11(10):1157–1164. <https://doi.org/10.1002/cpdd.1104>