利那洛肽胶囊的研制及质量评价

陈 辰，顾春燕，许 青
（上海上药第一生化药业有限公司，上海 200240）

摘要：基于质量源于设计理念，该研究以市售制剂令泽舒® 为参比制剂，选择 10 min 时的溶出率为评价指标，采用 Box-Behnken 设计 - 响应面法优化利那洛肽仿制胶囊的处方。所得优化结果为：处方中微晶纤维素丸芯型号选择 CP-305（粒径约 400 μm），黏合剂 HPMC 用量为 0.8%（每粒 0.96 mg），氯化钙与亮氨酸的比例为 3 ∶ 1（每粒含 1.8 和 0.6 mg）。按此处方制备 3 批自制制剂进行验证。结果显示，其含量和含量均匀度均符合要求；在不同 pH 介质中，10 min 时的溶出率均达到 85%以上，与参比制剂质量一致。

关键词：利那洛肽；胶囊；便秘型肠易激综合征；处方优化；Box-Behnken 设计；溶出率；质量一致性评价
中图分类号：R944.5；R975^{+}.3 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2025)07-0901-07
引 用：陈 辰，顾春燕，许 青. 利那洛肽胶囊的研制及质量评价 [J]. 中国医药工业杂志，2025, **56**(7): 901-907.
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.07.009

Preparation and Quality Evaluation of Linaclotide Capsules

CHEN Chen, GU Chunyan, XU Qing
(*Shanghai No.1 Biochemical and Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 200240*)

ABSTRACT: Based on the concept of quality by design, using the commercially available formulation Linzess® as the reference preparation, Box-Behnken design-response surface methodology was used to optimize the formulation of linaclotide capsules with the dissolution rate at 10 min as the evaluation index. The optimized formulation was as follows: selecting microcrystalline cellulose pellet core CP-305 (with a particle size of approximately 400 μm), the amount of adhesive HPMC at 0.8% (0.96 mg per capsule), and the ratio of calcium chloride to leucine of 3 ∶ 1 (respectively 1.8 mg and 0.6 mg per capsule). Three batches of self-made preparations were prepared according to above final formulation for validation. The results showed that the content and content uniformity met the requirements. In various pH media, the dissolution rate of three batches of self-made capsules exceeded 85% at 10 min, demonstrating consistent quality with the reference preparation.

Key Words: linaclotide; capsule; irritable bowel syndrome with constipation; formulation optimization; Box-Behnken design; dissolution; quality consistency evaluation

临床上肠易激综合征（irritable bowel syndrome，IBS）是一种常见的功能性胃肠道疾病，发病率处于较高水平（1.4%～11.5%[1]），近年还呈逐步上升的态势[2]。在 IBS 的诸多分型中，便秘型肠易激综合征（irritable bowel syndrome with constipation，IBS-C）较为常见。IBS-C 的临床表现主要为反复便秘，并常伴有与排便相关的腹痛、腹胀及腹部不适等一系列症状，对患者的生活质量造成了严重负面影响。由于各类药物在药理学机制层面有显著差异，存在难以同时缓解腹痛和便秘这 2 个症状的问题，甚至部分药物还会进一步加剧腹胀、腹痛等[3]。

利那洛肽（linaclotide，**1**）是一种新型鸟苷酸环化酶 C（guanylate cyclase C，GC-C）受体肽类激动药，

收稿日期：2025-02-28
作者简介：陈 辰，女，高级工程师，从事药物制剂研发工作。
E-mail：chenchen@sbpc.com.cn

由 14 个氨基酸组成，主要通过提高细胞内环磷酸鸟苷（cyclic guanosine monophosphate，cGMP）水平、促进肠道分泌、提升患者痛阈，达到通便、止痛的双重功效。因此，**1** 在治疗 IBS-C 方面具有“一药双效”的显著优势[4]。与传统通便药物相比，**1** 在作用强度、药效稳定性、减轻全身不良反应等方面的表现均更优异[5]。美国 Ironwood 公司与爱尔兰 Allergan 公司共同研发的 **1** 胶囊，于 2012 年经 FDA 批准在美国上市，2017 年在欧盟上市，2019 年在我国获批上市。目前，我国尚未有其他企业获得该产品的生产批件，因此 **1** 仿制药具有较大的市场需求。本研究基于质量源于设计（quality by design，QbD）理念[6]，运用 Box-Behnken 设计 - 响应面法，筛选出 **1** 仿制胶囊的最佳处方，并考察、对比其与参比制剂在 4 种不同介质中的溶出曲线和其他关键质量参数，旨在制备出与参比制剂质量一致的产品。

1　仪器与试药

WBF-60/120 型多功能制粒包衣机（重庆英格制药机械有限公司）；S49-600-2S 型三元旋振筛（孔径约 550 μm，新乡市高服机械股份有限公司）；1260 型高效液相色谱仪（美国安捷伦公司）；DM2000 型三目生物显微镜（徕卡仪器有限公司）；MS3000 型激光粒度仪（英国马尔文仪器有限公司）；RC1209 型溶出试验仪（天津市天大天发科技有限公司）；RISE 型电镜拉曼一体化显微镜［泰思肯（中国）有限公司］。

1 原料药（苏州天马医药集团有限公司，含量 99.5%，批号 0920230902）；**1** 对照品（苏州天马医药集团天吉生物制药有限公司，含量 98.6%，批号 23110201）；**1** 参比制剂（英国阿斯利康制药有限公司，商品名令泽舒®，规格 290 μg，批号 W060226）；氯化钙（成都华邑药用辅料制造有限责任公司，批号 20231202）；羟丙甲纤维素（HPMC，安徽山河药用辅料股份有限公司，型号 SH-E5，取代型 2910，标示黏度 5 mPa·s）；亮氨酸（津药药业股份有限公司，批号 ALEUH230606）；微晶纤维素（microcrystalline cellulose，MCC）丸芯（日本旭化成株式会社，型号分别为 CP102、CP305、CP708，粒径分别为 106 ～ 212、300 ～ 500 和 710 ～ 850 μm）；乙腈和甲醇为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

2　方法与结果

2.1　目标产品质量概况（quality target product profiles，QTPPs）

根据参比制剂的药品说明书明晰处方组成，再结合对参比制剂的体外分析，确定本品的 QTPPs，如表 1 所示。

表 1　目标产品质量概况

Tab.1　Quality Target Product Profiles

QTPPs	目标
适应证	IBS-C
剂型	胶囊
微丸处方组成	**1**、微晶纤维素丸芯、HPMC、亮氨酸、氯化钙
给药途径	口服
规格	290 μg
含量	标示量的 95.0%～ 105.0%
溶出度	10 min 时溶出率≥ 85.0%
贮存条件	不超过 25 ℃
有效期	36 个月，一旦开封，须在 18 周内使用完毕

2.2　产品的关键质量属性（critical quality attributes，CQAs）

在对 QTPPs 展开系统性评估与深度剖析时，运用科学的分析方法与专业理论，确定含量、含量均匀度、有关物质以及溶出度为本品的 CQAs。从药品研发的科学原理与实践经验来看，这些 CQAs 易受处方中活性成分与辅料的种类、用量比例，以及工艺等多种变量的影响。基于此，将这些 CQAs 作为核心研究对象，以体外溶出度作为关键评价指标，进行处方筛选与优化。

2.3　**1** 胶囊的制备

①配液：按处方称取 HPMC 12.52 g、氯化钙 10 g、亮氨酸 10 g，依次加至纯化水 1 kg 中，并用 1 mol/L 盐酸调至 pH 1.5 ～ 2.0，再加入 **1** 原料药 0.29 g。②制粒：将 MCC 丸芯（型号为 CP-708）1.17 kg 加至流化床中，预热至（45±10）℃，喷入上述料液，控制进风温度（55±5）℃、进风风量（70±10）m^3/h、雾化压力（70±10）kPa、进液速度 50 g/min，进行流化包衣。③干燥：喷液完成后，调整进风风量为（50±10）m^3/h，继续干燥至载药微丸水分≤ 5.0%，然后出料。④整粒：干燥后的载药微丸过 30 目筛（孔径约 550 μm）整粒。⑤取上述所得载药微丸 120 mg，灌装于 2 号明胶胶囊壳中，即得规格为 290 μg 的仿制 **1** 胶囊。处方筛选试验中每批制备 10 000 粒，用于后续研究。

2.4　体外评价指标

2.4.1　含量的 HPLC 测定法

参考本品的进口注册标准，确定如下色谱条件：

色谱柱 十八烷基硅烷键合硅胶柱（3.0 mm×150 mm，3 μm）；流动相 A 为水、乙腈和三氟乙酸（体积比 78 ∶ 22 ∶ 0.1），B 为乙腈、水和三氟乙酸（95 ∶ 5 ∶ 0.1），按表 2 所示程序进行梯度洗脱；检测波长 220 nm；流速 0.6 mL/min；柱温 40 ℃；进样量 50 μL。

表 2 梯度洗脱表

Tab.2 Gradient Elution Program

t/min	A/%	B/%
0	100	0
3.00	100	0
3.01	0	100
4.00	0	100
4.01	100	0
13.00	100	0

对照品溶液的制备：取 **1** 对照品适量，加 0.1 mol/L 盐酸溶解并定量稀释制成每 1 mL 中约含 **1** 0.02 mg 的溶液。

线性试验：取 **1** 对照品溶液适量，用 0.1 mol/L 盐酸稀释得 **1** 质量浓度为 16、18、20、24、28 μg/mL 的系列对照品溶液，过滤，取续滤液分别进样测定，以峰面积（*A*）为纵坐标、**1** 质量浓度 *c* 为横坐标，绘制标准曲线。所得线性方程为 $A=9.633\times10^{7}c-1\,581.2$，$r=0.999\,9$。结果表明，**1** 在 0.016 ～ 0.028 mg/mL 线性关系良好。

方法学验证试验：取低、中、高质量浓度（16、20 和 24 μg/mL）的对照品溶液，分别平行测定 3 组，计算得方法回收率平均值分别为 99.17%、99.86%和 100.2%，RSD 分别为 0.18%、0.21%和 0.19%（*n*=3）。上述结果表明，该方法的准确度和精密度良好。

2.4.2 含量测定

取本品 10 粒，将内容物全部转移至 250 mL 锥形瓶中，精密加入 0.1 mol/L 盐酸 150 mL，振荡 30 min，静置后取上清液作为供试品溶液。取供试品溶液 50 μL 注入液相色谱仪，检测并记录色谱图。另取对照品溶液，同法测定。采用外标法，以峰面积计算药物含量，含量为标示量的 95.0%～ 105.0%。

2.4.3 溶出度的测定

照 ChP 2020 年版四部通则 0931 第一法测定溶出度，采用 FDA 溶出度数据库推荐的 pH 4.5 磷酸盐缓冲液（准确称取磷酸二氢钠一水合物 41.4 g，加水溶解并稀释至 6 L）500 mL 作为溶出介质，转速 50 r/min，分别于 5、10、15、20、30、45 min 时取样 2 mL（同时补充同温、等量介质），过滤，取续滤液 1 mL 作为溶出液。另取对照品溶液，同法测定。采用外标法，计算溶出液中 **1** 的含量。

2.4.4 基础处方的质量评价结果

照“**2.3**”项下的基础处方和工艺制备 1 批 **1** 胶囊，并照“**2.4.3**”项下方法测定自制制剂与参比制剂的溶出度。所得溶出曲线如图 1 所示，可见 10 min 时自制制剂与参比制剂的溶出率分别为（72.3±3.6）%和（90.2±2.8）%。参比制剂 10 min 时溶出率即可达到 85%以上，而照“**2.3**”项下基础处方制备的样品药物溶出速度较慢，需要进一步优化处方。

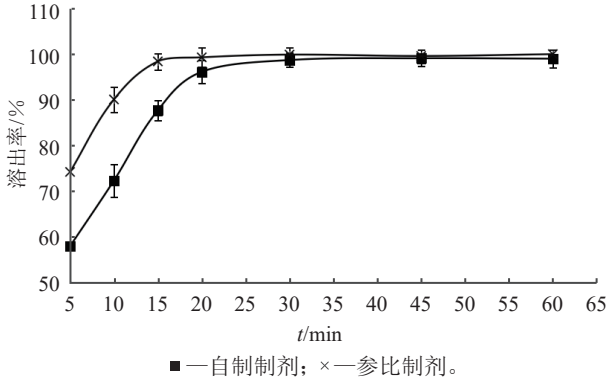


图 1 自制制剂与参比制剂在 pH 4.5 磷酸盐缓冲液中的溶出曲线（*n*=6）

Fig.1 Dissolution Profiles of the Self-made and Reference Preparations in pH 4.5 PBS (*n*=6)

2.5 Box-Behnken 设计

对参比制剂的处方分析表明，MCC 丸芯为填充剂，HPMC 为黏合剂，氯化钙与亮氨酸共同作为稳定剂。预试验结果表明，填充剂的用量对胶囊的溶出度影响不大，而 MCC 丸芯型号（*A*）、HPMC 用量（*B*）、氯化钙与亮氨酸的比例（*C*）可能对溶出度的影响较显著。其中，HPMC 用量低于 0.4%时，会造成药液黏度过低而无法附着于丸芯表面，用量高于 1.0%时，又会导致黏度过大而堵塞喷枪，使所得微

丸粘连，无法制备。根据 FDA 的非活性成分数据库（Inactive Ingreident Database）中允许的口服胶囊剂最大日剂量要求，氯化钙每粒不超过 2 mg，亮氨酸不超过 1 mg。结合前期对参比制剂逆向剖析的结果，初步将每粒胶囊中氯化钙与亮氨酸的总量控制在 2.4 mg。

本项基于预试验结果，分别对 3 种型号（CP-102、CP-305、CP-708，粒径分别约为 150、400、800 μm）的 MCC 丸芯、HPMC 用量、氯化钙与亮氨酸比例进行筛选。采用 Box-Behnken 设计结合响应面法[7−8]，以 10 min 时的溶出率（*Y*）为考察指标进行处方优化。各因素水平如表 3 所示，试验安排及结果如表 4 所示。使用 Minitab 17 软件进行多元回归分析，所得二项式模型的拟合方程为 $Y=95.71-2.97\times10^{-2}A+18.86B+0.28C+9\times10^{-6}A^2-20.04B^2+0.15C^2+1.25\times10^{-2}AB-2.1\times10^{-5}AC-1.61BC$，$R^2=0.988\ 5$，并进行方差分析（所得结果留存编辑部）。结果表明，因素 *A*、*B* 和 *C* 的一次项，交互项 *AB* 和 *BC*，以及因素 *A*、*B* 的二次项均对 *Y* 具有显著影响（$P<0.05$）；失拟项值高于 0.05，表征为不显著。上述结果提示所建立的模型预测结果与实际结果拟合度良好，能用于制剂的处方筛选试验，所得响应面图如图 2 所示。

表 3　Box-Behnken 设计的因素水平表

Tab.3　Factors and Levels for Box-Behnken Design

水平	因素		
	A/μm	*B*/%	*C*
−1	150	0.4	1
0	400	0.8	3
1	800	1.0	5

由图 2 可知，因素 *A* 和 *B*、因素 *B* 和 *C* 之间有明显的交互作用，其中 MCC 丸芯的粒径、HPMC 用量为主要的影响因素。丸芯粒径直接影响胶囊的溶出效果，丸芯粒径较大时表面积较小，填充时的分散程度大，会造成含量均匀性下降，溶出速率明显减慢。黏合剂 HMPC 用量增加会导致料液黏度增大，不仅会造成流化床喷头堵塞，还会减慢原料药的溶解，进而影响药物溶出。为与参比制剂的溶出行为保持一致，结合 Box-Behnken 设计结果，确定自制胶囊采用粒径为 400 μm 的 MCC 丸芯，即型号为 CP-305，黏合剂用量为 0.8%（每粒 0.96 mg），氯化钙与亮氨酸的比例为 3 ∶ 1（每粒含 1.8 和 0.6 mg）。

表 4　各因素对所得胶囊 10 min 时溶出率的影响

Tab.4　Effects of Various Factors on Dissolution Rate of the Capsules at 10 min

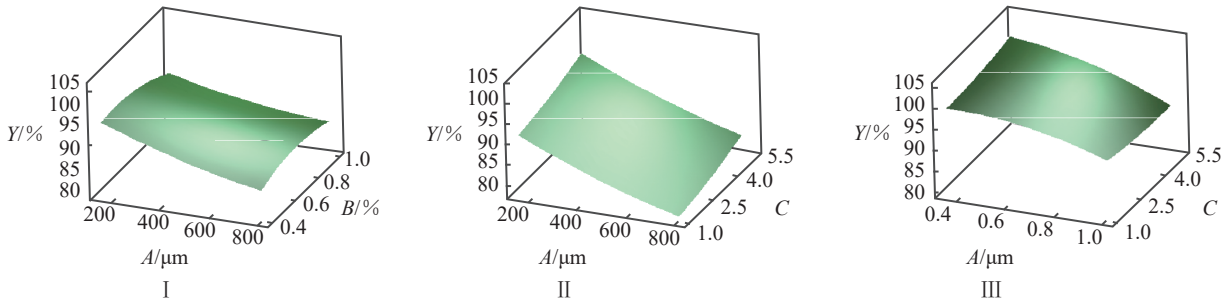
序号	*A*	*B*	*C*	*Y*/%
1	−1	−1	0	96.61
2	1	−1	0	86.53
3	−1	1	0	89.25
4	1	1	0	84.28
5	−1	0	−1	94.88
6	1	0	−1	87.29
7	−1	0	1	93.72
8	1	0	1	86.32
9	0	−1	−1	91.27
10	0	1	−1	87.56
11	0	−1	1	93.67
12	0	1	1	86.45
13	0	0	0	90.35
14	0	0	0	90.22
15	0	0	0	88.97

2.6　处方验证

优化自制胶囊照如下方法制备。①配液：按处方称取 HPMC 9.6 g、氯化钙 18 g、亮氨酸 6 g，依次加至纯化水 1 kg 中，并用 1 mol/L 盐酸调至 pH 1.5 ～ 2.0，加入 **1** 原料药 0.29 g，使溶解。②制粒：将型号 CP305 的 MCC 丸芯加 1.16 kg 至流化床中，照“**2.3**”项下流化工艺参数进行制粒、干燥、整粒，再灌制成胶囊。共制备 3 批胶囊（每批 10 000 粒，批号分别为 240101、240102 和 240103），供以下试验。

2.6.1　微丸堆（振实）密度和休止角的测定

取整粒后的微丸 100 g，缓慢倒入 250 mL 量筒中，记录初始体积 V_o。随后，轻轻敲击量筒 5 min，记录体积 V_1。继续敲击量筒 5 min，记录体积 V_2。若连续 2 次敲击后测得的体积差小于 2 mL，则认为粉体已达到紧实状态，记录此时的体积 V_f。重复测量 3 次，取平均值。根据以下公式计算相关参数：堆密度（$\rho_o=100/V_o$）、振实密度（$\rho_f=100/V_f$）和压缩度［$C=(\rho_f-\rho_o)/\rho_f\times100\%$］。



Ⅰ—因素 *A* 和 *B* 对 *Y* 的影响；Ⅱ—因素 *A* 和 *C* 对 *Y* 的影响；Ⅲ—因素 *B* 和 *C* 对 *Y* 的影响。

图 2　10 min 时溶出度的三维响应曲面图

Fig.2　Three-dimensional Response Surface Plots of Dissolution Rate at 10 min

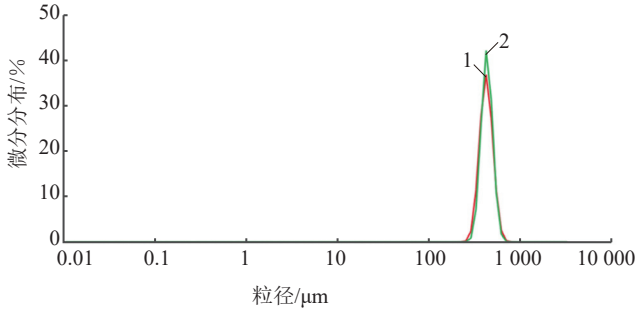
采用漏斗法测定休止角，重复测定 5 次。结果如表 5 所示。可见，3 批微丸的休止角均小于 30°，堆密度与振实密度接近，表明微丸的流动性好，能保障填充胶囊时的均一性，从而控制装量差异在较小范围内波动。

2.6.2　微丸粒度分布的测定

采用激光粒度分析仪干法模块测定自制制剂（批号 240101）和参比制剂中微丸的粒径。结果显示，自制制剂中微丸的 $d(0.1)$、$d(0.5)$ 和 $d(0.9)$ 分别为 349、425 和 520 μm，参比制剂分别为 361、432 和 513 μm，二者的粒度分布曲线如图 3 所示。可见，自制制剂和参比制剂中微丸的粒径及分布相近。

2.6.3　SEM 表征

将自制制剂和参比制剂中的微丸分别置扫描电镜下，观察二者表面形态，结果如图 4 所示。可见，自制制剂与参比制剂中的微丸粒径相近，表面均光滑圆整，无裂缝。



1—自制制剂；2—参比制剂。

图 3　自制制剂与参比制剂中微丸的粒度分布曲线图

Fig.3　Particle Size Distributions of the Pollets in Self-made and Reference Preparations

表 5　微丸压缩性和流动性测定结果

Tab.5　Results of Compressibility and Flowability of the Pellets

样品批号	ρ_o/(g·ml^{-1}) (n=3)	ρ_f/(g·ml^{-1}) (n=3)	C/% (n=3)	休止角/(°) (n=5)
240101	0.91±0.01	1.01±0.04	9.9±0.13	29.27±1.1
240102	0.89±0.02	0.99±0.06	10.1±0.21	28.13±1.0
240103	0.94±0.03	1.05±0.05	10.5±0.22	28.62±0.9

2.6.4　含量及含量均匀度的测定

照 ChP 2020 年版四部通则 0941 项下方法测定 3 批自制制剂的含量均匀度。如表 6 所示，结果均符合要求。

表 6　自制制剂的含量及含量均匀度

Tab.6　Content and Content Uniformity of the Self-made Preparations

样品批号	含量（标示量%）/%	含量均匀度（A+2.2S）
240101	99.8	1.6
240102	101.3	2.7
240103	100.8	2.5

2.6.5　4 种介质中溶出曲线的对比

将 3 批自制制剂与 1 批参比制剂分别在 0.1 mol/L 盐酸、pH 4.5 磷酸盐缓冲液、pH 6.8 磷酸盐缓冲溶液、水 4 种介质中按“**2.4.3**”项下方法测定溶出度。结果如图 5 所示。

按《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导

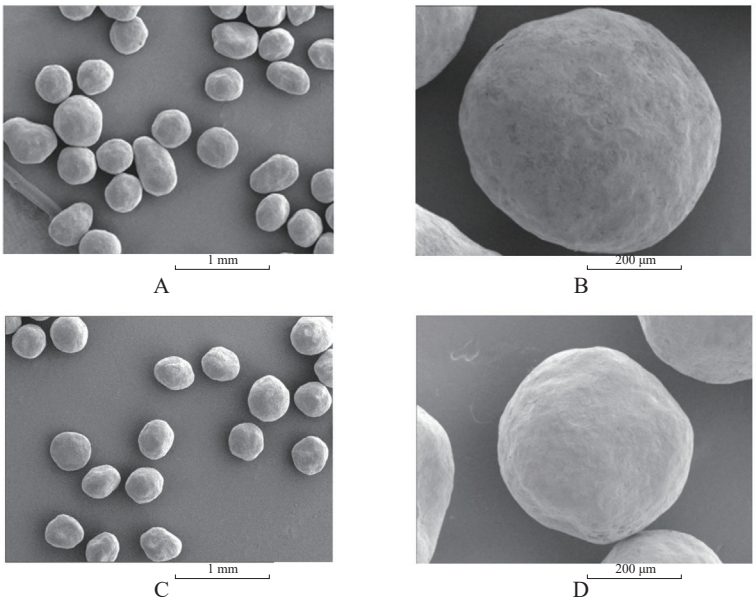
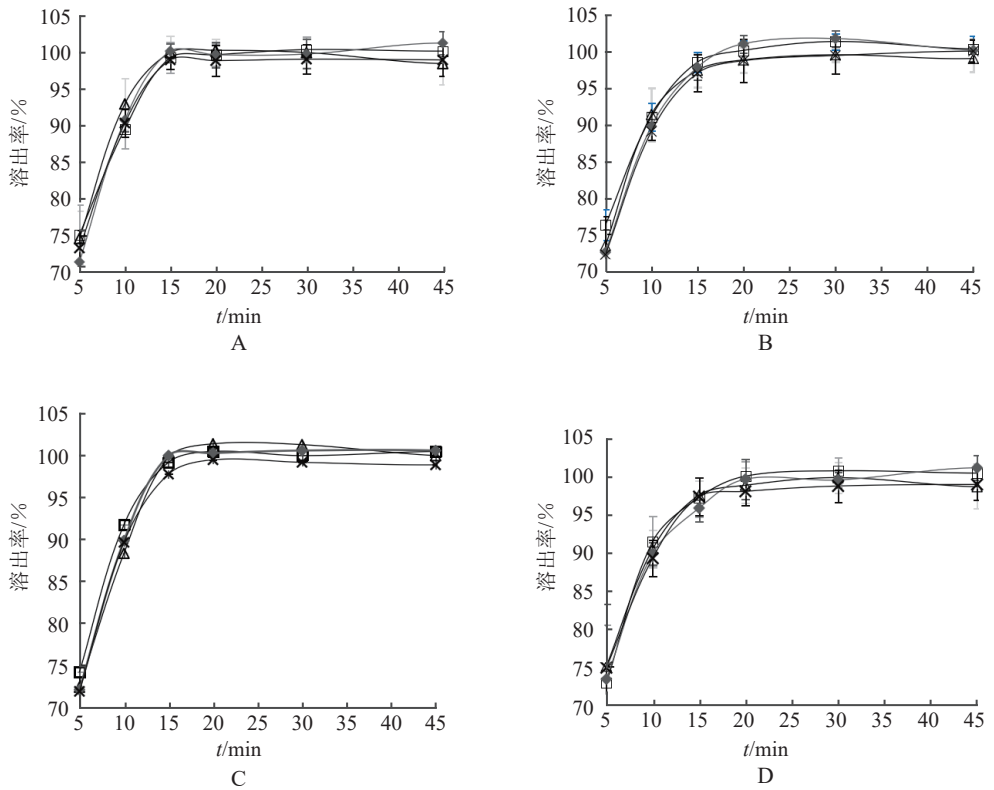


图 4　自制制剂中微丸（A：×100；B：×500）和参比制剂中微丸（C：×100；D：×500）的 SEM 照片

Fig.4　SEM Images of the Pellets in Self-made Preparation (A:×100; B:×500) and the Pellets in Reference Preparation (C:×100; D:×500)



A—0.1 mol/L 盐酸；B—pH 4.5 磷酸盐缓冲液；C—pH6.8 磷酸盐缓冲液；D—水。

△—自制制剂（240101）；□—自制制剂（240102）；◆—自制制剂（240103）；×—参比制剂。

图 5　自制制剂与参比制剂在不同 pH 介质中的溶出曲线（*n*=12）

Fig.5　Dissolution Curves of the Self-made and Reference Preparations in Various pH Media (*n*=12)

原则》的规定，当受试样品和参比样品在 15 min 时的平均溶出率均不低于 85%时，可认为溶出曲线相似。由图 5 可见，3 批自制制剂和参比制剂在 10 min 时平均溶出量均已达到 85%以上，故认为自制制剂与参比制剂的体外溶出行为是一致的。

3 讨论

本试验参考参比制剂处方及制剂研发经验，基于 QbD 理念，对可能影响溶出度的 3 个处方因素进行 Box-Behnken 设计，得到了优化处方，为后期中试放大和商业化生产提供了有力支持。由于本品中 **1** 是多肽药物，稳定性较差，后期工艺放大过程中需要严格控制工艺参数（如药液配制时间等），以期获得与参比制剂质量一致的产品，从而为我国 IBS-C 患者提供重要的治疗手段。

参考文献：

[1] 王一琼 , 高鸿智 , 梁 磊 , 等. 促分泌剂治疗便秘型肠易激综合征的研究进展 [J]. 现代药物与临床 , 2024, **39**(12): 3271-3274.

[2] TALLEY N J, HOLTMANN G. Irritable bowel syndrome and functional dyspepsia: what can epidemiology tell us about etiology? [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, **12**(7): 633-635.

[3] 程能能. 新型、口服肠上皮细胞鸟苷酸环化酶 C 激动剂——利那洛肽 [J]. 中国临床药学杂志 , 2019, **28**(4): 291-295.

[4] BASSOTTI G, USAI-SATTA P, BELLINI M. Linaclotide for the treatment of chronic constipation [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2018, **19**(11): 1261-1266.

[5] 苏琪茗 , 伊丽娜 , 吴晓玮 , 等. 利那洛肽的研究进展及适应证的拓展 [J]. 中国中西医结合消化杂志 , 2022, **30**(2): 159-162.

[6] 路婷婷 , 张 鑫 , 杨 昊 , 等. “质量源于设计”在阿法骨化醇软胶囊处方开发中的应用 [J]. 中国医药工业杂志 , 2023, **54**(4): 591-594.

[7] 刘珊珊 , 吴琼珠. Box-Behnken 设计 - 响应面法优化雷贝拉唑钠肠溶微丸片的处方 [J]. 中国医药工业杂志 , 2021, **52**(8): 1041-1048.

[8] 宗在伟 , 王宇成. 基于“质量源于设计”理念研制地拉罗司分散片 [J]. 中国医药工业杂志 , 2024, **55**(5): 674-679.