2 种制备工艺司美格鲁肽的固相表征及初步稳定性评价

郝贵周[1,2]，郑　华[1,2*]，刘德鹏[1,2]，杨本官[1,2]，姚运辉[1,2]，冯　中[1,2*]

（1. 鲁南新时代生物技术有限公司，山东省蛋白类药物工程实验室，山东临沂 273499；2. 鲁南制药集团股份有限公司，国家手性制药工程技术研究中心，山东临沂 273499）

摘要：该研究通过多尺度表征技术系统评价了 2 种制备工艺所得司美格鲁肽（**1**）原料药的理化性质及稳定性差异。采用 SEM、PXRD、TGA/DSC、动态水分吸附分析法、HPLC 法，分别对样品的微观晶习、晶型结构、热学特性、吸湿行为及溶解度进行了表征，并开展了影响因素试验以初步考察其稳定性。结果表明，2 种工艺制备的样品均为无定型态，呈现不规则薄片状晶习，但表面拓扑形貌存在显著差异；二者均表现为热力学不稳定，存在热降解倾向，且吸湿性较强，在酸性介质中溶解度低。在加速试验条件（高温、高湿、强光照射）下，2 种样品的有关物质含量及水分均呈增长趋势。该研究结果表明，2 种工艺制得的 **1** 原料药质量相当，均可用于 **1** 注射液和口服片剂的开发。该文可为制剂研发中 **1** 原料药的筛选及过程工艺选择提供数据支撑和理论指导。

关键词：司美格鲁肽；降血糖药；晶习；晶型；吸湿性；溶解度；初步稳定性

中图分类号：R977.1^{+}5；R917　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1001-8255(2026)09-1076-07

引用：郝贵周, 郑华, 刘德鹏, 等. 2 种制备工艺司美格鲁肽的固相表征及初步稳定性评价［J］. 中国医药工业杂志, 2026, **57**(9): 1076-1082. DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2026.09.007

Solid Phase Characterization and Preliminary Stability Evaluation of Semaglutide from Two Different Preparation Processes

HAO Guizhou[1,2], ZHENG Hua[1,2*], LIU Depeng[1,2], YANG Benguan[1,2], YAO Yunhui[1,2], FENG Zhong[1,2*]

(*1. Engineering Lab. of Protein Drug in Shandong Province, Lunan New Time Bio-tech Co., Ltd., Linyi 273499; 2. National Chiral Pharmaceuticals Engineering and Technology Research Center, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 273499*)

ABSTRACT: The physicochemical properties and stability differences of semaglutide (**1**) bulk drug obtained from two different manufacturing processes were systematically evaluated using multi-scale characterization techniques. This study employed SEM, PXRD, TGA/DSC, dynamic vapor sorption analysis, and HPLC to characterize the microcrystal habit, polymorphic structure, thermal properties, hygroscopic behavior, and solubility of the samples, respectively. Influence factor tests were performed to preliminarily investigate their stability. The results showed that the samples prepared by both processes were amorphous and exhibited irregular flake-like crystal habits, with distinct differences in surface topography. Both samples displayed thermodynamic instability, susceptibility to thermal degradation, strong hygroscopicity, and low solubility in acidic media. Under accelerating conditions (high temperature, high humidity, and intense light exposure), the contents of related substances and moisture in both samples showed an increasing trend. In summary, **1** bulk drug prepared by the two processes exhibited comparable quality, and both could be used for the development of **1** injection and oral tablets. This study can provide data support and theoretical guidance for the screening of **1** bulk drug and process selection during formulation development.

Key Words: semaglutide; antihyperglycemics; crystal habit; crystal form; hygroscopicity; solubility; preliminary stability

司美格鲁肽（semaglutide，**1**）是一种胰高血糖素样肽-1受体激动药（glucagon-like peptide-1 receptor agonist，GLP-1RA），与人体内胰高血糖素样肽-1（glucagon-like peptide-1，GLP-1）有94%序列同源性[1-2]。**1**原研药有注射液和片剂2种剂型，分别于2021年和2024年在中国获批上市，可用于成人2型糖尿病控制、降低心血管疾病风险、体质量管理等[3-4]。此外，**1**针对阿尔茨海默病、代谢相关脂肪性肝病等多种适应证的临床研究也在进行中[5-7]。诺和诺德2024年财报统计结果显示，**1**制剂产品在全球销售额达421.49亿美元，在有效性、经济性方面优于其他GLP-1RA制剂，表现出显著的经济社会效益。NMPA药品审评中心受理品种目录信息公开数据显示，国内有多个厂家按照化药2.2类和治疗用生物制品3.3类进行**1**注射液的临床申报申请，尚未见**1**片的申报申请。

1原料药的制备有2种工艺[8-14]：生物发酵结合化学合成和全化学合成。前者是通过基因工程技术，利用微生物发酵得到**1**的前体多肽，然后通过化学修饰和纯化，最终得到高纯度**1**。生物发酵通常采用酿酒酵母真核表达系统和大肠埃希菌原核表达系统。而**1**的全化学合成工艺包括传统的多肽固相合成、液相合成、化学酶催化合成以及片段缩合等。总体而言，**1**原料药的制备工艺复杂，生产过程和生产规模的变化均可能影响原料药的物理化学性质，从而对**1**制剂（尤其是片剂）的生产工艺、溶出度及生物利用度等产生影响[15]，最终影响药品的安全性、有效性和质量可控性。

为系统研究**1**原料药的晶习、晶型、热力学稳定性、物理稳定性，本研究采用SEM、PXRD、TGA/DSC、动态水分吸附（dynamic vapor sorption，DVS）分析对不同工艺制备的**1**原料药进行了系统的固相表征，并通过影响因素试验初步研究其稳定性，旨在为**1**制剂（尤其是片剂）的开发、生产和贮存提供基础资料。

收稿日期：2026-01-05
基金项目：泰山产业领军人才项目（tscx202312103）
作者简介：郝贵周，正高级工程师，从事多肽类药物的研究。
通信作者：郑　华，高级工程师，从事多肽类药物的研究。
冯　中，正高级工程师，硕士生导师，从事新药研究与开发。

1　仪器与试药

EM-30 PlUS+型扫描电镜（韩国COXEM公司）；Empyrean型X射线衍射仪（荷兰PANalytical公司）；DVS Intrinsic PLUS型动态水蒸气吸附仪（英国Surface Measurement Systems公司）；TGA/DSC 3+型热分析仪（美国Mettler Toledo公司）；UltiMate 3000型高效液相色谱仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）。

1原料药（样品A：生物发酵结合化学合成，鲁南新时代生物技术有限公司，纯度99.8%，批号240401，每批500 g；样品B：全化学合成，山西同达药业有限公司，纯度99.9%，批号240402，每批300 g）；磷酸二氢铵（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）；乙腈、异丙醇（色谱纯，德国Merck公司）。

2　方法与结果

2.1　原料药的制备工艺

样品A[12-13]：采用大肠埃希菌表达系统，发酵培养后收获菌体，通过破菌、超滤澄清、色谱捕获、前体酶切、微滤、超滤、色谱纯化，得中间体；中间体经化学修饰后，经色谱纯化、沉淀、微滤换液、冻干，得**1**原料药。该工艺所制备的**1**原料药已用于**1**注射液的临床申报以及**1**口服制剂的开发。

样品B[14]：采用固相合成法，使Fmoc-保护氨基酸与2-氯三苯甲基氯树脂在*N*,*N*-二异丙基乙胺（*N*,*N*-diisopropylethylamine，DIEA）存在条件下反应，将氨基酸负载到树脂上，得到肽树脂，再按照**1**肽链序列依次耦合具有N端Fmoc保护和侧链保护的氨基酸，得到**1**树脂；用切割试剂处理后，经过滤、浓缩、沉淀、过滤、洗涤、减压干燥，得**1**粗肽；再经纯化和冻干，得**1**原料药。该工艺所制备的**1**原料药为中试放大批，尚未备案，仅用于**1**口服制剂的开发。

2.2　原料药的晶习鉴别

由于结晶条件不同，不同工艺制备的**1**原料药可能具有不同的表面超微结构。本研究采用SEM观察2种工艺所得**1**原料药的晶习。取**1**样品适量，用导电胶固定在样品桩上，喷铂金镀膜，采用SEM采集样品能谱信息，设置电压为15 kV，计数率为每1 s 2 000次。用ESPRIT Compact 2.0软件对采集

的信息进行分析。结果（图 1）显示，样品 A 和样品 B 均呈现不规则的薄片状晶习。

2.3　1 原料药晶型的表征

2.3.1　PXRD

取适量 **1** 原料药，过 9 号药典筛［孔径为 (75.0±4.1) μm］后置玻璃样品板上，用 X 射线衍射仪测定。检测条件：入射光路 Bragg-Brentano HD 光学模块；发散狭缝 0.25°；索勒狭缝 0.04 rad；避光框 20 mm；防散射狭缝 1°；衍射光路 PLXcel；光管 Cu Kα 靶；光管电压 45 kV；光管电流 40 mA；步长 0.5 s，2θ 扫描范围 0 ～ 50°。结果（图 2）显示，样品中 A 和样品 B 的 PXRD 图谱中均未观察到锐锋，衍射峰均呈弥散峰，说明二者均以无定型态存在；但 2 种样品衍射峰的几何拓扑特征并不一致，说明其晶型状态可能存在差异。

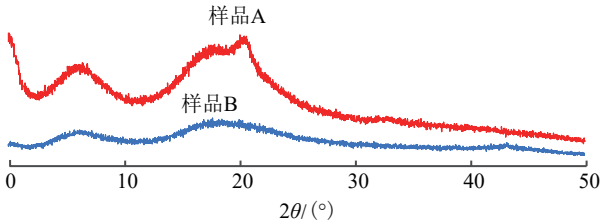


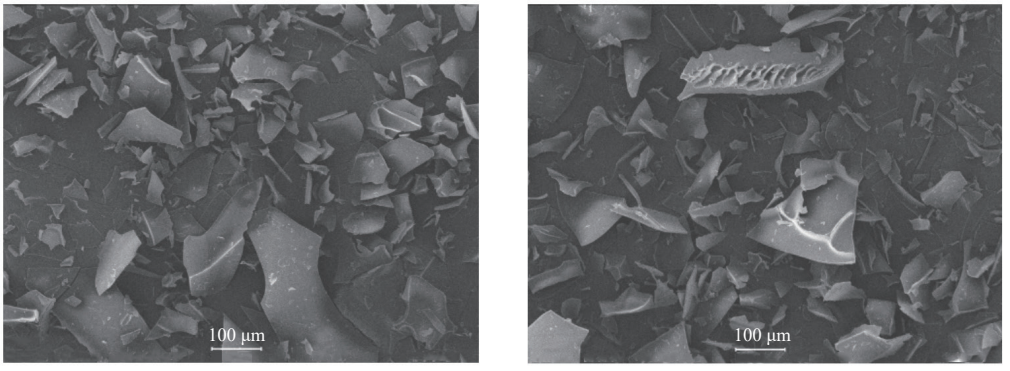
图 2　不同工艺所得 1 原料药的 PXRD 谱图

Fig.2　PXRD Patterns of **1** Bulk Drug Prepared by Different Processes

2.3.2　TGA/DSC

分别对样品 A 和样品 B 进行 TGA/DSC 检测。检测条件：动态温度段 30 ～ 400 ℃；升温速率 10 ℃ /min；气体 N_2；流量 50 mL/min；铝坩埚 40 μL。

结果（图 3）显示，样品 A 在 46.6 ～ 137.1 ℃失重 9.02%，样品 B 在 54.2 ～ 135.3 ℃失重 5.62%；二者 DSC 曲线均未观察到尖锐的熔融峰，仅呈现出比较宽泛的玻璃化转变信号，进一步说明 2 种样品均以无定型态存在。

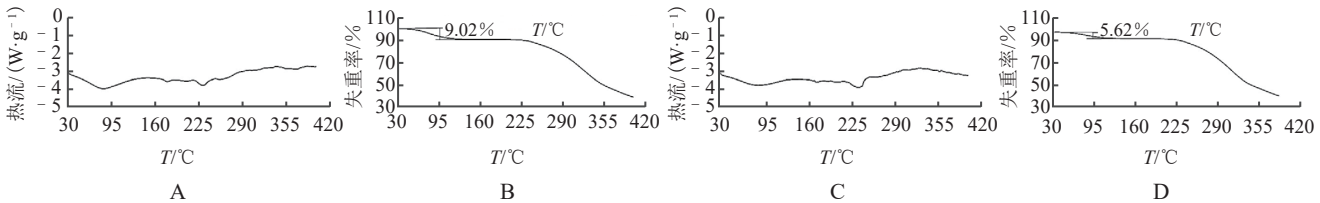


A　　B

A—**1** 样品 A（×200）；B—**1** 样品 B（×200）。

图 1　不同制备工艺所得 1 原料药的晶习

Fig.1　Crystal Habit of **1** Bulk Drug from Different Preparation Processes



A　　B　　C　　D

A 和 C—样品 A 和样品 B 的 DSC 曲线；B 和 D—样品 A 和样品 B 的 TGA 曲线。

图 3　不同工艺所得 1 原料药的 TGA/DSC 曲线

Fig.3　TGA/DSC Curves of **1** Bulk Drug Prepared by Different Processes

2.4 1 原料药的 DVS 考察

DVS 可用于评估药物在一定温度及湿度条件下吸收水分的能力，以及研究药物在吸湿后是否发生晶型转化。这对药品包装和贮存条件的选择具有重要参考价值。

DVS 测定条件：温度 25 ℃；样品量 30 ～ 50 mg；氮气流速 500 mL/min；起始相对湿度 0；终止相对湿度 95%；步幅 5%；自动记录样品质量的时间间隔 1 min。

结果（图 4）显示，样品 A 达稳态时的平衡含水率为 35.05%，耗时 2 454 min；样品 B 达稳态时的平衡含水率为 32.77%，耗时 2 508 min。可见，二者吸附水分至完全饱和的时间相当。样品含水率随着环境相对湿度上升而增加，且每个阶段，含水率先快速增加，再缓慢增加至平衡。在相对湿度高于 60%后，样品 A 的平衡含水率较样品 B 高，吸附水分所需时间短。由吸附等温线（图 5）可见，**1** 在吸湿起始阶段，斜率逐渐增加，说明质量增加的速率逐步增大。取样品 A 和样品 B 吸附等温线中的第 5 个和第 15 个采样点分别做切线，2 条切线的交叉点即为吸水率显著变化点。结果表明，样品 A 在相对湿度 62.17%条件下水分增加 8.17%；样品 B 在相对湿度 62.51%条件下水分增加 8.07%。

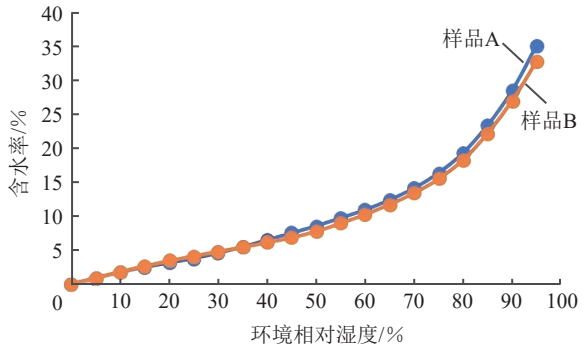


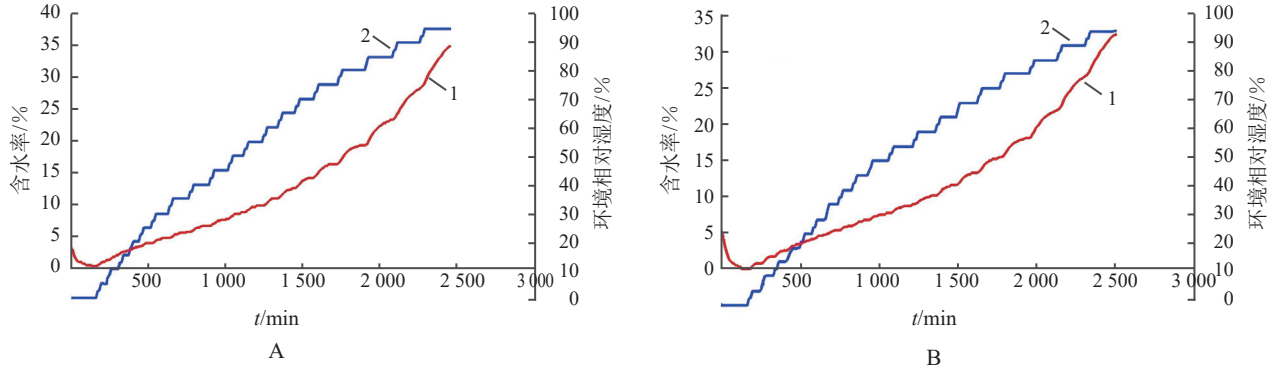
图 5 不同工艺所得 1 原料药的吸附等温线（25 ℃）

Fig.5 Moisture Sorptiondesorption Isotherms of **1** Bulk Drug Prepared by Different Processes (25 ℃)

2.5 初步稳定性考察

根据 ChP 2025 年版四部指导原则 9001“原料药物与制剂稳定性试验指导原则”中原料药影响因素试验方法，分别将供试品在高温（60 ℃）、高湿［相对湿度（90±5）%］、强光照射［(4 500±500) lx］条件下放置 10 d，于 D0、D10 取样进行有关物质、水分的检测，初步探讨药物的固有稳定性。有关物质采用 HPLC 法检测，含水率采用费休氏法检测。

色谱条件：色谱柱 Phenomenex Kinetex® C_{18} 柱（4.6 mm×150 mm，2.6 μm）；流动相 A 为 0.08 mol/L 磷酸二氢铵缓冲液、乙腈和水（体积比 8 ∶ 1 ∶ 1），B 为乙腈、异丙醇和水（体积比 3 ∶ 1 ∶ 1），梯度洗脱（表 1）；流速 0.7 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 230 nm；进样量 10 μL。



A—样品 A；B—样品 B。

1—含水率；2—环境相对湿度。

图 4 不同工艺所得 1 原料药的动态吸附含水率变化曲线

Fig.4 Dynamic Vapor Sorption Curves of **1** Bulk Drug Prepared by Different Processes

表 1　梯度洗脱表

Tab.1　Gradient Elution Table

t/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	54	46
7	47	53
37	47	53
49	10	90
52	10	90
53	54	46
60	54	46

样品 A 和样品 B 在 D0 的有关物质图谱如图 6 所示。

结果（表 2）显示，2 种 **1** 原料药在高温、高湿、强光照射下放置 10 d，亲水性杂质、疏水性杂质 1、疏水性杂质 2、总杂含量总体均有所增加，水分也有所增加。

2.6　溶解度研究

表观溶解度是连接原料药理化性质与制剂体内性能的桥接参数。本研究选择模拟胃液条件的盐酸（pH 1.2）和模拟肠液条件的 PBS（pH 6.8），测定不同工艺所得 **1** 原料药在不同 pH 介质中的溶解度。取样品 A 和样品 B，研细，置溶出杯中，分别加入溶出介质 250 mL，配制成过饱和溶液，每种介质平行试验 3 次。在 37 ℃、200 r/min 条件下溶解，采用 HPLC 法检测并计算溶解度。

色谱条件：色谱柱 Phenomenex Kinetex C_{18} 柱（2.1 mm×100 mm，3 μm）；流动相 0.09 mol/L 磷酸二氢铵溶液（pH 3.6）、乙腈、异丙醇和水（体积比 38 ∶ 42 ∶ 10 ∶ 10）；检测波长 210 nm；柱温 25 ℃；流速 1.0 mL/min；进样量 20 μL。

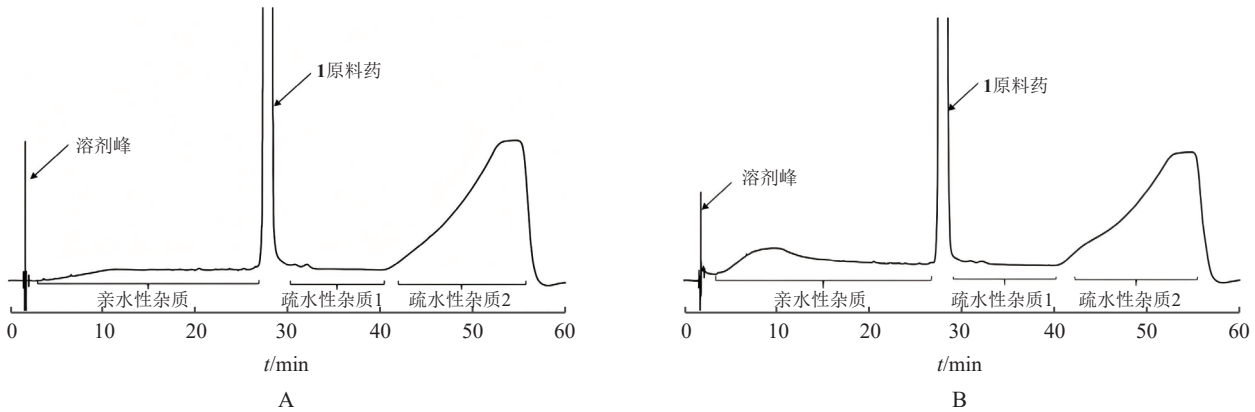
结果表明，2 种工艺制备的 **1** 原料药在模

表 2　影响因素试验考察结果 [1)]/%（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Tab.2　Investigation Results of Influence Factor Tests/%（$\bar{x}\pm s$, n=3）

样品名称	放置条件	亲水性杂质含量	疏水性杂质 1 含量	疏水性杂质 2 含量	总杂含量	含水率
样品 A	D0	0.11±0.01	0.19±0.01	—	0.29±0.01	3.73±0.03
	高温 10 d	1.98±0.01	0.49±0.01	0.87±0.01	3.35±0.02	3.70±0.03
	高湿 10 d	1.17±0.02	0.13±0.01	0.07±0.01	1.46±0.02	15.83±0.04
	强光照射 10 d	0.79±0.01	—	0.06±0.01	0.85±0.02	7.81±0.03
样品 B	D0	0.11±0.01	0.18±0.01	—	0.28±0.01	3.72±0.02
	高温 10 d	1.90±0.02	0.52±0.01	0.83±0.01	3.27±0.02	3.70±0.01
	高湿 10 d	1.19±0.02	0.15±0.01	0.08±0.01	1.48±0.01	15.92±0.04
	强光照射 10 d	0.78±0.01	0.13±0.01	0.06±0.01	0.97±0.01	7.91±0.03

注：[1)] 亲水性杂质、疏水性杂质 1、疏水性杂质 2 为图 6 所示的混合组分，总杂为三者之和。



A—**1** 样品 A；B—**1** 样品 B。

图 6　D0 时样品的有关物质色谱图

Fig.6　Chromatograms of Related Substances of the Samples at D0

拟胃液中的溶解度（n=3）分别为（8.5±0.2）和（8.9±0.2）μg/mL，在模拟肠液中为（10 150.8±192.3）和（10 280.7±187.3）μg/mL。可见，2 种样品在模拟胃液条件中均几乎不溶，在模拟肠液条件中略溶，且样品间无显著差异。

3 总结与讨论

本研究通过 SEM 观察到 2 种制备工艺所得 **1** 原料药均呈现不规则薄片状晶习。该性状会增大原料药在产业化生产中的过滤阻力，导致固体制剂开发时出现流动性差、可压性差的问题；同时，晶体在辊轮直压及压片过程中易破碎，最终导致制剂中的原料药粒度低于初始粒度。

PXRD 谱图和 TGA/DSC 曲线均表明样品 A 和样品 B 以无定型状态存在；且 **1** 原料药存在热不稳定性问题，样品 A 的起始分解温度较样品 B 更早，在热分解过程中失重较多。

DVS 分析结果显示，**1** 原料药吸湿性强，且样品 A 的吸湿性还略强于样品 B；与高湿环境相比，低湿环境中 **1** 原料药的吸湿速度较低，提示 **1** 原料药及其相关制剂在生产和贮存过程中均需要控制环境相对湿度。本研究通过切线方程，得到 **1** 原料药的显著水分变化点，结果提示样品 A 的生产环境相对湿度需控制在 62.17%以下，样品 B 需控制在 62.51%以下。根据 GMP 指南，**1** 口服制剂生产过程的环境相对湿度甚至需控制在 50%以下，从而达到防止 **1** 原料药吸湿的目的，保证口服制剂的质量。

影响因素考察试验结果显示，制备工艺不同的 **1** 原料药在高温、高湿、强光照射下均不稳定，总杂含量增加，且在高湿、强光照射下水分均增加，提示制剂生产中应避免高温、高湿和强光照射。

2 种工艺制备的 **1** 原料药溶解度差异不大。**1** 在酸性介质中的溶解度均较差，可能与酸中稳定性差有关；在 pH 6.8 条件下，**1** 溶解度均超过 10 mg/mL，满足漏槽条件，因此在口服制剂开发中可选择 pH 6.8 的介质作为标准介质。

样品 A 冻干前为水溶液，采用低温升华干燥；样品 B 冻干前为有机溶液，采用有机溶剂冻干。由于冻干前溶液性质、多肽浓度及干燥机制的差异，所得 **1** 原料药的固体特征存在不同，最终形成具有不同孔隙率、比表面积、机械强度及化学稳定性的固体。发酵法所得产品通常孔隙率更高、吸湿性更强；化学合成产品更致密，但需严格控制高分子蛋白、痕量金属、阴离子、反离子和残留溶剂的含量[16]。

综上所述，上述 2 种来源的 **1** 原料药质量相当，均可用于 **1** 注射液和口服片剂的开发，仿制药厂家可基于研发需求和市场信息进行布局。本研究可为制剂研发中 **1** 原料药的筛选和工艺选择提供数据支撑和理论指导。同时，本研究的局限性在于：①受研发阶段限制，2 种工艺样品的测试批量有限，且仅解析了冻干工艺步骤对原料药固体特征的差异化影响；②鉴于不同企业的同类生产工艺（包括前端合成、后端纯化、固体转化等环节）存在显著差异，本研究观察到的固体特征差异仅适用于所考察的 2 种特定工艺，不能作为“生物发酵法”与“化学合成法”2 类路线的普适性结论，亦不能外推至其他生产企业的同类工艺。后续需积累更大生产规模（如 10 kg 级以上）的多批次产品数据，以全面评估 **1** 理化特性与质量传递规律，为原料药工艺选型与制剂开发提供更充分的依据。

参考文献：

[1] Andersen A, Knop F K, Vilsbøll T. A pharmacological and clinical overview of oral semaglutide for the treatment of type 2 diabetes [J]. *Drugs*, 2021, **81**: 1003-1030.

[2] Thota-Kammili S, Tama E, Hurtado Andrade M D. Glucagon-like peptide 1 receptor agonists for obesity: efficacy, side effects, and risks [J]. *Curr Treat Options Gastro*, 2024, **22**: 145-154.

[3] 刘亚丹, 段飞, 符宇, 等. 司美格鲁肽在肥胖人群中的应用 [J]. 中国新药与临床杂志, 2023, **42**(11): 689-694.

[4] 陈奕楷, 罗芷祺, 武文姣, 等. 司美格鲁肽的临床应用与研究现状[J]. 今日药学, 2026, **36**(2): 147-153.

[5] Wang Z J, Li X R, Chai S F, *et al*. Semaglutide ameliorates cognition and glucose metabolism dysfunction in the 3xTg mouse model of Alzheimer's disease via the GLP-1R/SIRT1/GLUT4 pathway [J]. *Neuropharmacology*, 2023, **240**: 109716.

[6] 诺和诺德股份有限公司. 用于治疗非酒精性脂肪性肝炎的司美格鲁肽: CN202180031190.1 [P]. 2021-04-26.

[7] 郑佳, 李绮梦, 明义. 司美格鲁肽治疗肥胖2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝病的研究进展[J]. 世界临床药物, 2026, **47**(1): 99-103.

[8] 河北厚泽生物科技有限公司. 基于大肠杆菌表达体系的系列司美格鲁肽核心29肽融合分子及其应用: CN202411011627.7 [P]. 2024-09-10.

[9] 福建基诺厚普生物科技有限公司. 一种司美格鲁肽的制备方法: CN202410329732.9 [P]. 2024-10-01.

[10] 深圳深创生物药业有限公司. 一种司美格鲁肽的合成方法: CN2020110008017.3 [P]. 2021-07-16.

[11] 东圆珍, 马洁, 张喜全, 等. 索玛鲁肽的制备[J]. 中国医药工业杂志, 2018, **49**(6): 742-747.

[12] 北京惠之衡生物科技有限公司. 一种高密度发酵制备司美格鲁肽前体的方法: CN202111059010.9 [P]. 2021-10-15.

[13] 杭州微远生物科技有限公司. 一种细胞内酶切制备司美格鲁肽前体肽的方法: CN202510168398.8 [P]. 2025-03-14.

[14] 浙江九洲药业股份有限公司. 一种司美格鲁肽的合成方法: CN202310103285.0 [P]. 2023-05-16.

[15] Staby A, Bjerre Steensgaard D, Haselmann K F, *et al*. Influence of production process and scale on quality of polypeptide drugs: a case study on GLP-1 analogs [J]. *Pharm Res*, 2020, **37**: 120.

[16] Hach M, Engelund D K, Mysling S, *et al*. Impact of manufacturing process and compounding on properties and quality of follow-on GLP-1 polypeptide drugs [J]. *Pharm Res*, 2024, **41**: 1991-2014.

