

团

体

标

T
准

T/CBPIA 0014—2025

多肽合成用 N-芴甲氧羰基保护氨基酸
Protected Amino Acids with Fluorene
Methoxycarbonyl Group
for Peptide Synthesis
(征求意见稿)

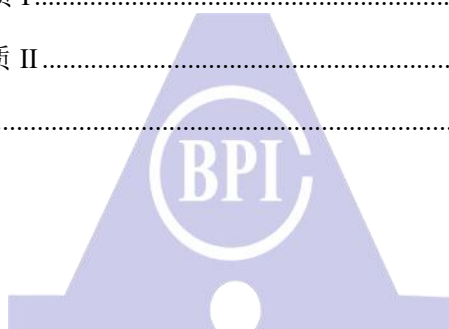
2025 - XX - XX 发布

2025 - XX - XX 实施

中国生化制药工业协会 发布

目 次

目 次.....	I
前 言.....	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	3
3 术语和定义、缩略语	4
4 技术要求	4
5 试验方法	155
6 检验规则	19
7 标识、包装、运输、贮存、有效期.....	20
附录 A（规范性）有关物质 I.....	22
附录 B（规范性）有关物质 II.....	27
附录 C（规范性）异构体	49



前 言

本标准：按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本标准适用于20种N-苄氧羰基保护氨基酸。

本标准由成都泰和伟业生物科技有限公司、南京知和医药科技有限公司提出。

本标准由中国生化制药工业协会归口管理。

本标准起草单位：成都泰和伟业生物科技有限公司、南京知和医药科技有限公司、中肽生化有限公司、成都市科隆化学品有限公司、苏州默迪夫生物科技有限公司、北京亦度正康健康科技有限公司。

本标准主要起草人：山广志、祁伟、谭康利、万伟、丁伟、朱谧、徐琪、李湘、张晓斌、刘林、陈玉琛、李乐、陈震、杨化新、仲平、苏贤斌、陆益红、赵军锋、胡文言、周斌、范蕊萌、金燕京、李鑫。



多肽合成用 N-苄氧羰基保护氨基酸

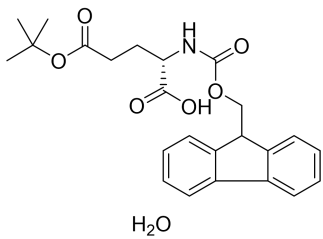
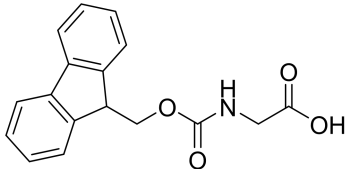
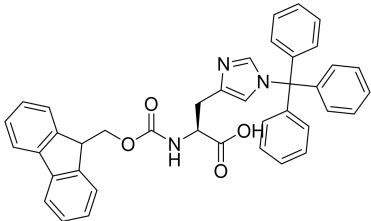
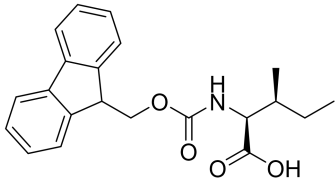
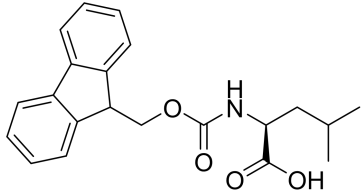
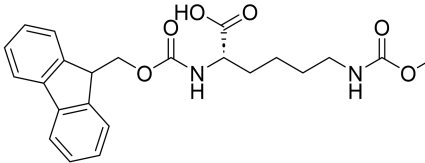
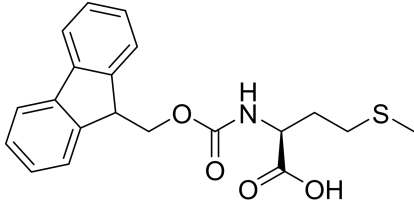
1 范围

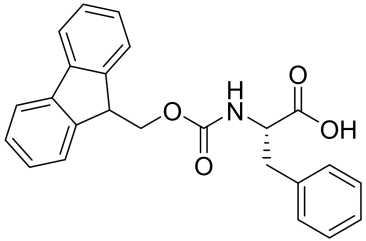
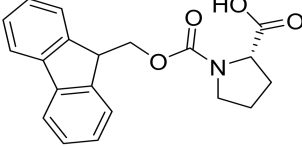
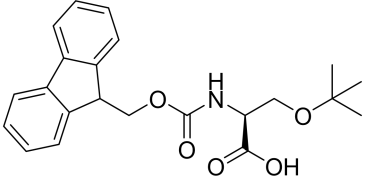
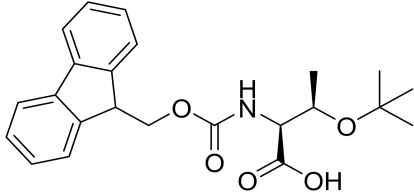
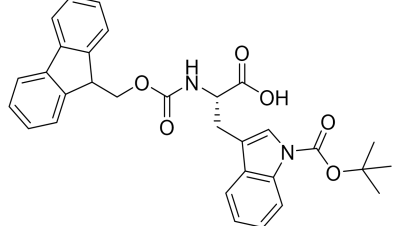
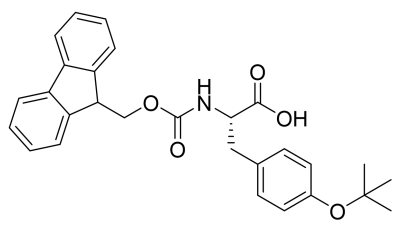
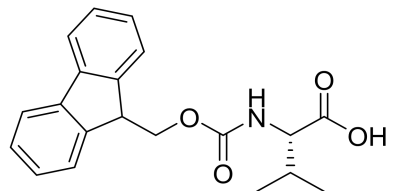
本标准规定了化学合成多肽药物起始原料——保护氨基酸的技术要求、试验方法、检验规则，以及标识、包装、运输、贮存的要求。

本标准涉及多肽药物化学合成中常用的 20 种苄氧羰基保护氨基酸，详细信息见表 1。

表 1 20 种保护氨基酸化学名称、英文缩写、分子式、分子量、CAS 号和结构式汇总表

序号	化学名称	英文缩写	分子式	分子量	CAS 号	结构式
1	N ^α -苄氧羰基-丙氨酸一水合物	Fmoc-Ala-OH·H ₂ O	C ₁₈ H ₁₇ NO ₄ ·H ₂ O	329.35	207291-76-7	
2	N ^α -苄氧羰基-精氨酸 (2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基)	Fmoc-Arg (Pbf) -OH	C ₃₄ H ₄₀ N ₄ O ₇ S	648.77	154445-77-9	
3	N ^α -苄氧羰基-天冬酰胺(三苯甲基)	Fmoc-Asn(Trt)-OH	C ₃₈ H ₃₂ N ₂ O ₅	596.67	132388-59-1	
4	N ^α -苄氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯	Fmoc-Asp(OtBu)-OH	C ₂₃ H ₂₅ NO ₆	411.45	71989-14-5	
5	N ^α -苄氧羰基-半胱氨酸(三苯甲基)	Fmoc-Cys(Trt)-OH	C ₃₇ H ₃₁ NO ₄ S	585.71	103213-32-7	
6	N ^α -苄氧羰基-N ^α -三苯甲基-谷氨酰胺	Fmoc-Gln(Trt)-OH	C ₃₉ H ₃₄ N ₂ O ₅	610.70	132327-80-1	

7	N ^α -苄氧羰基-谷氨酸(叔丁酯)一水物	Fmoc-Glu(OtBu)-OH ·H ₂ O	C ₂₄ H ₂₇ NO ₆ ·H ₂ O	443.49	204251-24-1	
8	N ^α -苄氧羰基-甘氨酸	Fmoc-Gly-OH	C ₁₇ H ₁₅ NO ₄	297.31	29022-11-5	
9	N ^α -苄氧羰基-组氨酸(三苯甲基)	Fmoc-His(Trt)-OH	C ₄₀ H ₃₃ N ₃ O ₄	619.71	109425-51-6	
10	N ^α -苄氧羰基-异亮氨酸	Fmoc-Ile-OH	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	353.41	71989-23-6	
11	N ^α -苄氧羰基-亮氨酸	Fmoc-Leu-OH	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	353.41	35661-60-0	
12	N ^α -苄氧羰基-N ^ε -叔丁氧羰基-赖氨酸	Fmoc-Lys(Boc)-OH	C ₂₆ H ₃₂ N ₂ O ₆	468.54	71989-26-9	
13	N ^α -苄氧羰基-甲硫氨酸	Fmoc-Met-OH	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄ S	371.45	71989-28-1	

14	N ^α -苄甲氧羰基-苯丙氨酸	Fmoc-Phe-OH	C ₂₄ H ₂₁ NO ₄	387.43	35661-40-6	
15	N ^α -苄甲氧羰基-脯氨酸	Fmoc-Pro-OH	C ₂₀ H ₁₉ NO ₄	337.37	71989-31-6	
16	N ^α -苄甲氧羰基-丝氨酸(叔丁基)	Fmoc-Ser(tBu)-OH	C ₂₂ H ₂₅ NO ₅	383.44	71989-33-8	
17	N ^α -苄甲氧羰基-苏氨酸(叔丁基)	Fmoc-Thr(tBu)-OH	C ₂₃ H ₂₇ NO ₅	397.46	71989-35-0	
18	N ^α -苄甲氧羰基-色氨酸(叔丁氧羰基)	Fmoc-Trp(Boc)-OH	C ₃₁ H ₃₀ N ₂ O ₆	526.58	143824-78-6	
19	N ^α -苄甲氧羰基-酪氨酸(叔丁基)	Fmoc-Tyr(tBu)-OH	C ₂₈ H ₂₉ NO ₅	459.53	71989-38-3	
20	N ^α -苄甲氧羰基-缬氨酸	Fmoc-Val-OH	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	339.39	68858-20-8	

2 规范性引用文件

下列标准包含的条文，通过在本标准中引用而形成为本标准的条文，在标准发布时，所示版本均为有效。所有标准都有可能更新，使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

- GB/T1.1-2020 标准化工作导则 产品标准编写规定
- GB/T 191 包装储运图示标志
- GB 7718 预包装食品标签通则
- 《中国药典》2025 年版
- 《药品生产质量管理规范（2010 年修订）》
- 《化学合成多肽药物药学研究技术指导原则（试行）》2023 年

3 术语和定义、缩略语

3.1 Fmoc 保护氨基酸：

氨基酸的 α -氨基与 Fmoc 试剂反应而封闭了氨基活性的氨基酸衍生物。

3.2 缩略语

DMF	二甲基甲酰胺（N,N-Dimethylformamide）
Fmoc	9-芴甲氧羰基（9- fluorenylmethoxycarbonyl）
Trt	三苯甲基（Triphenylmethyl）
tBu	叔丁基（Tert-butyl）
Boc	叔丁氧羰基（Tert-butoxycarbonyl）
Fmoc-OSu	芴甲氧羰酰琥珀酰亚胺（Fmoc N-hydroxysuccinimide este）
Pbf	2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基 (2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydrobenzofuran-5-ylsulfonyl)
Allo-Ile-OH	别异亮氨酸（Alloisoleucine）

4 技术要求

本标准规定了多肽化学合成中常用的 20 种芴甲氧羰基保护氨基酸的基本技术要求（见表 2）。由于作为起始物料的保护氨基酸的质量会影响多肽药物的合成工艺及成品质量，例如保护氨基酸中的杂质可能伴随化学反应发生传递和转化，因此对于特定的多肽药物，表 2 中所列的芴甲氧羰基保护氨基酸的技术要求可能需要基于药品监管机构的具体要求而调整。

如果残留溶剂对后续多肽合成工艺和产品质量有影响，应根据生产使用溶剂种类，按照《中国药典》2025 年版四部通则 0861 进行检测，限度应符合《中国药典》相应要求。如对后续多肽合成工艺和产品质量无影响，可不作为出厂检验项目，但生产企业亦应完成对产品相关溶剂残留量的控制研究。另外，生产企业还可以根据客户要求增加其他检测项目，例如，质谱鉴别、比旋度测定等。

表 2 20 种苄甲氧羰基保护氨基酸的技术要求

序号	化学名称	项目		要求/限度
1	N ^α -苄甲氧羰基-丙氨酸一水合物	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后, 应澄清
			有关物质I	供试品溶液如显杂质斑点, 其颜色与 H-Ala-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 (≤0.1%)
			有关物质II	Fmoc-β-Ala-Ala-OH≤0.10% Fmoc-Ala-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Ala-OH·H ₂ O≤0.10%
			水分	≤6.4%
			醋酸	≤0.01%
		【含量测定】		含 C ₁₈ H ₁₇ NO ₄ ·H ₂ O 不得少于 98.0%
2	N ^α -苄甲氧羰基-精氨酸 (2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基)	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 溶液中溶解后, 应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点, 其颜色与 H-Arg-OH 对照品溶液和 H-Arg (Pbf)-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 (≤0.1%)
			有关物质II	Fmoc-Arg-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Arg(Pbf)-OH≤0.10% Fmoc-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%

			异构体	Fmoc-D-Arg(Pbf)-OH≤0.10%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
			【含量测定】	
3	N ^α -苄氧羰基-天冬酰胺（三苯甲基）	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	（1）HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			（2）红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 溶液中溶解后，应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点，其颜色与 H-Asn-OH 对照品溶液和 H-Asn(Trt)-OH 对照品溶液的主斑点比较，不得更深（≤0.1%）
			有关物质II	Fmoc-Asn-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Asn(Trt)-OH≤0.10% Fmoc-Asn(Trt)-Asn(Trt)-OH≤0.10% H-Asn(Trt)-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Asn(Trt)-OH≤0.10%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
			【含量测定】	
		4	N ^α -苄氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯	【性状】
【鉴别】	（1）HPLC鉴别			有关物质 II 项下记录的色谱图，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
	（2）红外鉴别			本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
【检查】	溶液的澄清度*			1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后，应澄清
	有关物质I			供试品溶液相应位置如显杂质斑点，其颜色与 H-Asp-OH 对照品溶液和 H-Asp（OtBu）-OH 对照品溶液的主斑点比较，不得更深（≤0.1%）
	有关物质II			Fmoc-Asp-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Asp(OtBu)-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10%

				Fmoc-Asp-OtBu ≤0.10% Fmoc-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OH≤0.10% Fmoc-Asp(OtBu)-OMe ≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Asp(OtBu)-OH≤0.10%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
		【含量测定】		含 C ₂₃ H ₂₅ NO ₆ 不得少于 98.5%
5	N ^α -苄甲氧羰基-半胱氨酸（三苯甲基）	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	（1）HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			（2）红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后，应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点，其颜色与 H-Cys-OH 对照品溶液和 H-Cys(trt)-OH 对照品溶液的主斑点比较，不得更深（≤0.1%）
			有关物质II	Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-Cys-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Cys(Trt)-OH≤0.10% Fmoc-Cys(Trt)-Cys(Trt)-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Cys(Trt)-OH≤0.10%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
		【含量测定】		含 C ₃₇ H ₃₁ NO ₄ S 不得少于 98.0%
6	N ^α -苄甲氧羰基-N ^α -三苯甲基-谷氨酰胺	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	（1）HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			（2）红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后，应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点，其颜色与 H-Gln-OH 对照品溶液和 H-Gln(Trt)-OH 对照品溶液的主斑点比较，不得更深（≤0.1%）

			有关物质II	Fmoc-Gln-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% Trt-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Gln(Trt)-OH≤0.10% Fmoc-Gln(Trt)-Gln(Trt)-OH≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Gln(Trt)-OH≤0.10%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
		【含量测定】		含 C ₃₉ H ₃₄ N ₂ O ₅ 不得少于 98.0%
7	N ^α -苄甲氧羰基-谷氨酸(叔丁酯)一水物	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后, 应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点, 其颜色与 H-Glu-OH 对照品溶液和 H-Glu(OtBu)-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 (≤0.1%)
			有关物质II	Fmoc-Glu-OH≤0.10% Fmoc-Glu-OtBu≤0.10% Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Glu(OtBu)-OH≤0.10% Fmoc-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Glu(OtBu)-OH·H ₂ O≤0.10%
			水分	≤5.0%
			醋酸	≤0.01%
			【含量测定】	
8	N ^α -苄甲氧羰基-甘氨酸	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后, 应澄清

			有关物质I	供试品溶液如显杂质斑点，其颜色与 H-Gly-OH 对照品溶液的主斑点比较，不得更深（≤0.1%）
			有关物质II	Fmoc-β-Ala-Gly-OH≤0.10% Fmoc-Gly-Gly-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-OH≤1.0% Fmoc-OSu≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
		【含量测定】		含 C ₁₇ H ₁₅ NO ₄ 不得少于 98.0%
9	N ^α -苄甲氧羰基-组氨酸（三苯甲基）	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	（1）HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			（2）红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后，应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点，其颜色与 H-His-OH 对照品溶液和 H-His(Trt)-OH 对照品溶液的主斑点比较，不得更深（≤0.1%）
			有关物质II	Fmoc-His-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-His(Trt)-OH≤0.10% Fmoc-His(Trt)-His(Trt)-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.20% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-His(Trt)-OH≤0.10%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
		【含量测定】		含 C ₄₀ H ₃₃ N ₃ O ₄ 不得少于 98.0%
10	N ^α -苄甲氧羰基-异亮氨酸	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	（1）HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			（2）红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后，应澄清
			有关物质I	供试品溶液位置显杂质斑点，其颜色与

				H-Ile-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 (≤0.1%)
			有关物质II	Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Ile-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Ile-OH≤0.10% Fmoc-D-Allo-Ile-OH≤0.10% Fmoc-L-Allo-Ile-OH≤0.10%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
			【含量测定】	
11	N ^α -苄甲氧羰基-亮氨酸	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后, 应澄清
			有关物质I	供试品溶液位置显杂质斑点, 其颜色与 H-Leu-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 (≤0.1%)
			有关物质II	Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Leu-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% Fmoc-Leu-Leu-OH≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Leu-OH≤0.1%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
			【含量测定】	
12	N ^α -苄甲氧羰基-N ^ε -叔丁氧羰基-赖氨酸	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后, 应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点, 其颜色与 H-Lys-OH 对照品溶液和

				H-Lys(Boc)-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 ($\leq 0.1\%$)
			有关物质II	Fmoc-Lys-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-Lys(Boc)-OH $\leq 0.10\%$ Boc-Lys(Fmoc)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-OSu $\leq 0.10\%$ Fmoc-Lys(Boc)-Lys(Boc)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-Lys(Fmoc)-OH $\leq 0.10\%$ 最大未知单一杂质 $\leq 0.10\%$ 杂质总量 $\leq 1.0\%$
			异构体	Fmoc-D-Lys(Boc)-OH $\leq 0.1\%$
			水分	$\leq 1.0\%$
			醋酸	$\leq 0.01\%$
			【含量测定】	含 $C_{26}H_{32}N_2O_6$ 不得少于 98.5%
			【性状】	白色或类白色粉末
13	N ^α -苄甲氧羰基-甲硫氨酸	【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后, 应澄清
			有关物质I	供试品溶液位置显杂质斑点, 其颜色与 H-Met-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 ($\leq 0.1\%$)
			有关物质II	Fmoc-Met(O)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-Met(O) ₂ -OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-Met-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-Met-Met-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-OSu $\leq 0.10\%$ 最大未知单一杂质 $\leq 0.10\%$ 杂质总量 $\leq 1.0\%$
			异构体	Fmoc-D-Met-OH $\leq 0.1\%$
			水分	$\leq 1.0\%$
			醋酸	$\leq 0.01\%$
			【含量测定】	含 $C_{20}H_{21}NO_4S$ 不得少于 98.0%
14	N ^α -苄甲氧羰基-苯丙氨酸	【性状】	【鉴别】	白色或类白色粉末
			(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致

		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后，应澄清
			有关物质I	供试品溶液位置显杂质斑点，其颜色与 H-Phe-OH 对照品溶液的主斑点比较，不得更深（≤0.1%）
			有关物质II	Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Phe-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% Fmoc-Phe-Phe-OH≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Phe-OH≤0.10%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
		【含量测定】		含 C ₂₄ H ₂₁ NO ₄ 不得少于 98.0%
		【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
15	N ^α -苄氧羰基-脯氨酸	【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后，应澄清
			有关物质I	供试品溶液位置显杂质斑点，其颜色与 H-Pro-OH 对照品溶液的主斑点比较，不得更深（≤0.1%）
			有关物质II	Fmoc-β-Ala-Pro-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-OH 与 Fmoc-Pro-Pro-OH≤0.20% Fmoc-OSu≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Pro-OH≤0.10%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
		【含量测定】		含 C ₂₀ H ₁₉ NO ₄ 不得少于 98.0%
		【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
16	N ^α -苄氧羰基-丝氨酸(叔丁基)	【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后，应澄清

			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点, 其颜色与 H-Ser-OH 对照品溶液和 H-Ser(tBu)-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 ($\leq 0.1\%$)
			有关物质II	Fmoc-Ser-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-Ser(tBu)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-Ser(tBu)-Ser(tBu)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-OSu $\leq 0.10\%$ 最大未知单一杂质 $\leq 0.10\%$ 杂质总量 $\leq 1.0\%$
			异构体	Fmoc-D-Ser(tBu)-OH $\leq 0.10\%$
			水分	$\leq 1.0\%$
			醋酸	$\leq 0.01\%$
			【含量测定】	含 C ₂₂ H ₂₅ NO ₅ 不得少于 98.0%
			【性状】	白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
17	N ^a -苄甲氧羰基-苏氨酸(叔丁基)		溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后, 应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点, 其颜色与 H-Ser-OH 对照品溶液和 H-Ser(tBu)-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 ($\leq 0.1\%$)
		【检查】	有关物质II	Fmoc-Thr-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-Thr(tBu)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-Thr(tBu)-Thr(tBu)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-OSu $\leq 0.10\%$ 最大未知单一杂质 $\leq 0.20\%$ 杂质总量 $\leq 1.0\%$
			异构体	Fmoc-D-Thr(tBu)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-D-Allo-Thr(tBu)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-L-Allo-Thr(tBu)-OH $\leq 0.10\%$
			水分	$\leq 1.0\%$
			醋酸	$\leq 0.01\%$
			【含量测定】	含 C ₂₃ H ₂₇ NO ₅ 不得少于 98.0%
18	N ^a -苄甲氧羰基-色氨酸(叔丁氧羰基)	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致

			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后, 应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点, 其颜色与 H-Trp-OH 对照品溶液和 H-Trp(Boc)-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 ($\leq 0.20\%$)
			有关物质II	Fmoc- β -Ala-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-Trp-OH $\leq 0.20\%$ Fmoc- β -Ala-Trp(Boc)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-Trp(Boc)-Trp(Boc)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-OSu $\leq 0.10\%$ 最大未知单一杂质 $\leq 0.20\%$ (核对) 杂质总量 $\leq 1.0\%$
			异构体	Fmoc-D-Trp(Boc)-OH $\leq 0.10\%$
			水分	$\leq 1.0\%$
			醋酸	$\leq 0.01\%$
		【含量测定】		含 $C_{31}H_{30}N_2O_6$ 不得少于 92.0%
19	N ^a -苄甲氧羰基-酪氨酸(叔丁基)	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后, 应澄清
			有关物质I	供试品溶液相应位置如显杂质斑点, 其颜色与 H-Trp-OH 对照品溶液和 H-Trp(Boc)-OH 对照品溶液的主斑点比较, 不得更深 ($\leq 0.1\%$)
			有关物质II	Fmoc-Tyr-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-Tyr(tBu)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-Tyr(tBu)-Tyr(tBu)-OH $\leq 0.10\%$ Fmoc-OSu $\leq 0.10\%$ 最大未知单一杂质 $\leq 0.10\%$ 杂质总量 $\leq 1.0\%$
			异构体	Fmoc-D-Tyr(tBu)-OH $\leq 0.10\%$
			水分	$\leq 1.0\%$
			醋酸	$\leq 0.01\%$
		【含量测定】		含 $C_{28}H_{29}NO_5$ 不得少于 98.0%
20	N ^a -苄甲氧羰基-缬氨酸	【性状】		白色或类白色粉末
		【鉴别】	(1) HPLC鉴别	有关物质 II 项下记录的色谱图, 供试品

				溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致
			(2) 红外鉴别	本品的红外光吸收图谱应与对照品的图谱一致
		【检查】	溶液的澄清度*	1 mmol 供试品在 2 ml DMF 中溶解后，应澄清
			有关物质I	供试品溶液位置显杂质斑点，其颜色与 H-Val-OH 对照品溶液的主斑点比较，不得更深 (≤0.1%)
			有关物质II	Fmoc-β-Ala-OH≤0.10% Fmoc-β-Ala-Val-OH≤0.10% Fmoc-Val-Val-OH≤0.10% Fmoc-OSu≤0.10% Fmoc-Ile-OH≤0.10% Fmoc-Leu-OH≤0.10% 最大未知单一杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
			异构体	Fmoc-D-Val-OH≤0.1%
			水分	≤1.0%
			醋酸	≤0.01%
		【含量测定】		含 C ₂₀ H ₂₁ NO ₄ 不得少于 98.0%

注：*溶液的澄清度：可根据客户对溶剂的具体要求，测定供试品在其它溶剂中的澄清度。

5 试验方法

应符合《中国药典》2025 年版凡例及通则相关规定。

5.1 性状

采用目视法测定，取试样 2~3 g，平铺于白瓷盘中，在自然光下观察，应为白色或类白色粉末。

5.2 鉴别

5.2.1 鉴别 (1) HPLC 鉴别

有关物质 II 项下记录的色谱图中，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致。

5.2.2 鉴别 (2) 照红外鉴别

照红外光谱法 (《中国药典》2025 年版四部通则 0402) 测定。

[1].仪器及试剂

仪器：红外光谱仪、电子天平、压片机、玛瑙研钵。

试剂：溴化钾（光谱纯）。

[2].分析步骤

称取供试品 1~2 mg，加干燥的溴化钾 150~200 mg 充分研磨混匀，采用压片法制样，测定并记录红外吸收图谱，应与对照品的光谱图一致。

5.3 检查

5.3.1 溶液的澄清度

照澄清度检查法（《中国药典》2025 年版四部通则 0902）测定。

[1].仪器及试剂

仪器：50 ml 具塞比色管。

试剂：DMF（分析纯）。

[2].分析步骤

称取本品适量（见表 3），置 25 ml 具塞比色管中，加 DMF 10 ml，震荡溶解后，溶液应澄清。

表 3 20 种保护氨基酸溶液的澄清度检测取样量

序号	保护氨基酸	取样量（g）
1	N ^α -苄甲氧羰基-丙氨酸一水合物	1.7
2	N ^α -苄甲氧羰基-精氨酸（2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基）	3.8
3	N ^α -苄甲氧羰基-天冬酰胺（三苯甲基）	3.0
4	N ^α -苄甲氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯	2.1
5	N ^α -苄甲氧羰基-半胱氨酸（三苯甲基）	2.9
6	N ^α -苄甲氧羰基-N ^α -三苯甲基-谷氨酰胺	3.0
7	N ^α -苄甲氧羰基-谷氨酸（叔丁酯）一水物	2.2
8	N ^α -苄甲氧羰基-甘氨酸	1.5
9	N ^α -苄甲氧羰基-组氨酸（三苯甲基）	3.1
10	N ^α -苄甲氧羰基-异亮氨酸	1.8
11	N ^α -苄甲氧羰基-亮氨酸	1.8
12	N ^α -苄甲氧羰基-N ^ε -叔丁氧羰基-赖氨酸	2.4
13	N ^α -苄甲氧羰基-甲硫氨酸	1.9
14	N ^α -苄甲氧羰基-苯丙氨酸	1.9
15	N ^α -苄甲氧羰基-脯氨酸	1.7
16	N ^α -苄甲氧羰基-丝氨酸（叔丁基）	1.9
17	N ^α -苄甲氧羰基-苏氨酸（叔丁基）	2.0
18	N ^α -苄甲氧羰基-色氨酸（叔丁氧羰基）	2.6
19	N ^α -苄甲氧羰基-酪氨酸（叔丁基）	2.3
20	N ^α -苄甲氧羰基-缬氨酸	1.7

5.3.2 有关物质 I

见附录 A。

5.3.3 有关物质 II

见附录 B。

5.3.4 异构体

见附录 C。

5.3.5 水分

照水分测定法（《中国药典》2025 年版四部通则 0832，第一法 1）。

[1].仪器及试剂

仪器：分析天平、水分测定仪。

试剂：卡尔费休氏试剂、无水甲醇（分析纯）。

[2].分析步骤

取供试品 0.2 g，精密称定，依法测定

5.3.6 醋酸

照合成多肽中的醋酸测定法（《中国药典》2025 年版四部通则 0872）测定。

如样品中醋酸残留量较低，上述方法无法满足灵敏度要求，或特殊检测需要，可采用下述离子色谱法（《中国药典》2025 年版四部通则 0513）测定。

[1].仪器及试剂

仪器：离子色谱仪、电子天平。

试剂：碳酸钠（色谱纯）、碳酸氢钠（色谱纯）、醋酸根标准液。

[2].色谱条件

烷醇季铵离子为离子交换基的色谱柱（250 mm×4.0 mm，6 μm，或其他适宜色谱柱）；以碳酸钠缓冲液（称取碳酸钠 0.477 g、碳酸氢钠 0.1176 g，加水溶解并稀释成 1000 ml，摇匀，滤过）作为淋洗液；柱温 30℃，流速 1.0 ml/min。进样量 10 μl，电导检测器。

[3].分析步骤

1)标准曲线溶液的配制

醋酸对照品溶液：取醋酸根标准液适量，按表 4 用水稀释成系列对照品溶液。

表 4 标准曲线法参考系列浓度

系列号	0	1	2	3	4	5	6
醋酸含量	0 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm	1.5 ppm	2.0 ppm

2)供试品溶液的配制

供试品溶液：取供试品约 0.5 g，精密称定，置 50 ml 量瓶中，加水 40 ml，超声处理 20 分钟，放冷，用水稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液。

3)定量方法

以标准曲线法计算醋酸残留量。

5.4 含量测定

照非水溶液滴定法（《中国药典》2025 年版四部通则 0702）。

[1].试剂和溶液

中性甲醇：取甲醇 500 ml，加入 2 滴酚酞指示剂，用 0.1 mol/L 氢氧化钠滴定液滴定至溶液显淡红色，保持 30 s 不褪。

中性 DMF：取 DMF 500 ml，加入 2 滴酚酞指示剂，用 0.1 mol/L 氢氧化钠滴定液滴定至溶液显淡红色，保持 30 s 不褪。

中性丙酮：取丙酮 500 ml，加入 2 滴酚酞指示剂，用 0.1 mol/L 氢氧化钠滴定液滴定至溶液显淡红色，保持 30 s 不褪。

氢氧化钠滴定液（0.1 mol/L）和酚酞指示剂。

[2].操作方法

取本品适量（见表 5），精密称定，置于一个干燥洁净的 150 ml 锥形瓶中，加入 50 ml 溶剂（见表 5），振摇使供试品溶解，加酚酞指示剂 2 滴，用 0.1 mol/L 氢氧化钠滴定液滴定至溶液显淡红色，并保持 30 s 不褪色；记录消耗滴定液的体积。

表 5 20 种保护氨基酸的取样量、溶剂及滴定度

序号	保护氨基酸	取样量(g)	溶剂	滴定度 (n)
1	N ^α -苄甲氧羰基-丙氨酸一水合物	0.7	中性甲醇（或 中性丙酮）	0.32935
2	N ^α -苄甲氧羰基-精氨酸（2,2,4,6,7-五甲基 二氢苯并呋喃-5-磺酰基）	1.2	中性甲醇	0.64877
3	N ^α -苄甲氧羰基-天冬酰胺（三苯甲基）	1.2	中性 DMF	0.59667
4	N ^α -苄甲氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯	0.8	中性甲醇	0.41145
5	N ^α -苄甲氧羰基-半胱氨酸（三苯甲基）	1.2	中性 DMF	0.58571
6	N ^α -苄甲氧羰基-N ^α -三苯甲基-谷氨酰胺	1.2	中性 DMF	0.61070
7	N ^α -苄甲氧羰基-谷氨酸（叔丁酯）一水物	0.9	中性甲醇	0.44349
8	N ^α -苄甲氧羰基-甘氨酸	0.6	中性甲醇	0.29731
9	N ^α -苄甲氧羰基-组氨酸（三苯甲基）	1.2	中性 DMF	0.61971
10	N ^α -苄甲氧羰基-异亮氨酸	0.7	中性甲醇	0.35341
11	N ^α -苄甲氧羰基-亮氨酸	0.7	中性甲醇	0.35341
12	N ^α -苄甲氧羰基-N ^ε -叔丁氧羰基-赖氨酸	0.9	中性甲醇	0.46854

13	N ^α -苄甲氧羰基-甲硫氨酸	0.7	中性甲醇	0.37145
14	N ^α -苄甲氧羰基-苯丙氨酸	0.8	中性 DMF	0.38743
15	N ^α -苄甲氧羰基-脯氨酸	0.7	中性甲醇	0.33737
16	N ^α -苄甲氧羰基-丝氨酸（叔丁基）	0.7	中性甲醇	0.38344
17	N ^α -苄甲氧羰基-苏氨酸（叔丁基）	0.8	中性甲醇	0.39746
18	N ^α -苄甲氧羰基-色氨酸（叔丁氧羰基）	1.2	中性甲醇	0.52658
19	N ^α -苄甲氧羰基-酪氨酸（叔丁基）	0.9	中性甲醇	0.45953
20	N ^α -苄甲氧羰基-缬氨酸	0.7	中性甲醇	0.33939

[3].计算公式

$$\text{含量}(\%) = \frac{c \times v \times n}{m} \times 100\%$$

式中：

c——为氢氧化钠滴定液的浓度，单位为 mol/L；

v——为供试品消耗氢氧化钠滴定液的体积，单位为 ml；

n——为滴定度即 1.00 ml 氢氧化钠滴定液（0.1000 mol/L）相当于保护氨基酸的质量，单位为 g（见表 5）；

m——为供试品的质量，单位为 g。

[4].允许误差

取两次平行实验结果的平均值为测定结果，两次平行实验结果之间的相对平均偏差不得大于 0.3%。

6 检验规则

6.1 组批

经一个或若干加工过程生产的、具有预期均一质量和特性的一定数量的产品划分为一个批次，并赋予唯一批号。

6.2 抽样

6.2.1 固体产品按《药品生产质量管理规范》（2010 年修订）附录 9 “取样” 相关要求。

6.2.2 抽取样本数按《药品生产质量管理规范》（2010 年修订）中 “取样操作一般原则”

执行，若总件数为 n，则当 n≤3 时，每件取样；当 3<n≤300 时，按 n+1 件随机取样；当 n>300 时，按 n/2+1 件随机取样。

6.2.3 总取样量不少于两倍全检用量，将取好后的样品混合均匀，分作两份，一份供检测使用，一份用作留样，并做好标识。

6.3 出厂检验与复验

6.3.1 产品应经本公司质检部门按本标准要求进行检查，检验合格后方可出厂。

6.3.2 对 20 种保护氨基酸进行出厂检验并报告检验结果。检验项目见表 2。

6.3.3 出厂检验时，检验结果应符合本文件规定。如有不合格项，允许加倍抽样对不合格项进行复检，若仍不合格，则判定产品为不合格，产品不得出厂。

7 标识、包装、运输、贮存、有效期

7.1 标识

7.1.1 销售包装上应至少标有以下内容：

产品名称；

产品批号；

商品责任单位名称及地址；

产品净重；

产品生产日期和复检期；

执行标准号；

产品合格标识。



7.1.2 包装箱上的包装储运图示标识按 GB/T 191 的规定选择使用。

7.1.3 标识应清晰、牢固，不应因运输条件和自然条件而褪色、变色、脱落。

7.2 包装

产品包装应保证产品不受损伤，应防尘、防震，便于运输和贮存。如客户有特殊要求，按合同有关规定进行。

7.3 运输

产品运输应避免冲击、挤压、日晒、雨淋及化学品的腐蚀。

7.4 贮存

N^α-苄氧羰基-色氨酸(叔丁氧羰基)需在-20℃以下密封避光保存,其他品种应在 30℃以下密封遮光贮存。所有产品均不得与有毒、有害、有异味、易挥发、易腐蚀的物品同处贮存。

7.5 复验期

在规定条件下储存,且包装完整未经启封的产品,自生产之日起复验期一般为 24 个月,或执行监管机构批准的复验期。复验期届满或根据需要安排对产品质量进行复验。



附录 A
(规范性)
有关物质 I

照薄层色谱法（《中国药典》2025 年版四部通则 0502）。

A.1 仪器及试剂

A.1.1 仪器：硅胶 G 薄层板、层析缸。

A.1.2 试剂：甲醇（分析纯）、N,N-二甲基甲酰胺（分析纯）、0.1%三氟乙酸水溶液、正丁醇（分析纯）、冰醋酸（分析纯）、1 mol/L 盐酸溶液、2%茚三酮乙醇溶液。

A.2 分析步骤

A.2.1 对照品溶液的配制

20 种保护氨基酸有关物质（TLC）的对照品溶液配制见下表。

A.2.2 供试品溶液的配制

20 种保护氨基酸有关物质（TLC）的供试品溶液配制见下表。

A.2.3 点样

精密吸取上述对照品溶液和供试品溶液各 2 μ l，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以正丁醇-冰醋酸-水（3:1:1）为展开剂，展开约 7 cm，取出，晾干。

A.2.4 显色

喷以 2%茚三酮乙醇溶液，置 105℃加热至斑点清晰呈现，立即置可见光下检视。

A.3 结果判定

供试品溶液如显杂质斑点，其颜色与相应对照品溶液的主斑点比较，不得更深（ $\leq 0.1\%$ ）。

表 6 20 种保护氨基酸有关物质 (TLC) 试验方法及限度表

序号	保护氨基酸	对照品溶液	供试品溶液	结果判定
1	N ^a -苄甲氧羰基-丙氨酸一水合物	取 H-Ala-OH 对照品适量,精密称定,用水溶解并稀释制成 1 ml 中含 H-Ala-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量,精密称定,用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Ala-OH ≤ 0.1%
2	N ^a -苄甲氧羰基-精氨酸 (2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基)	① 取 H-Arg-OH 对照品适量,精密称定,加 1mol/L 盐酸溶液溶解并制成 1ml 中含 H-Arg-OH 0.1mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Arg(Pbf)-OH 对照品适量,精密称定,用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Arg(Pbf)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量,精密称定,用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Arg-OH ≤ 0.1% H-Arg(Pbf)-OH ≤ 0.1%
3	N ^a -苄甲氧羰基-天冬酰胺(三苯甲基)	① 取 H-Asn-OH 对照品适量,精密称定,加水溶解并制成 1 ml 中含 H-Asn-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Asn(Trt)-OH 对照品适量,精密称定,用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Asn(Trt)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量,精密称定,用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Asn-OH ≤ 0.1% H-Asn(Trt)-OH ≤ 0.1%
4	N ^a -苄甲氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯	① 取 H-Asp-OH 对照品适量,精密称定,加水溶解并制成 1 ml 中含 H-Asp-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Asp(OtBu)-OH 对照品适量,精密称定,用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Asp(OtBu)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量,精密称定,用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Asp-OH ≤ 0.1%; H-Asp(OtBu)-OH ≤ 0.1%
5	N ^a -苄甲氧羰基-半胱氨酸(三苯甲基)	① 取 H-Cys-OH 对照品适量,精密称定,加 0.1%三氟醋酸水溶液溶解并制成 1 ml 中含 H-Cys-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Cys(Trt)-OH 对照品适量,精密称定,用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Cys(Trt)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量,精密称定,用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Cys-OH ≤ 0.1% H-Cys(Trt)-OH ≤ 0.1%

6	N ^α -苄甲氧羰基- -N ^α -三苯甲基-谷 氨酰胺	① 取 H-Gln-OH 对照品适量，精密称定，加水溶解并制成 1 ml 中含 H-Gln-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Gln(Trt)-OH 对照品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Gln(Trt)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Gln-OH ≤0.1%； H-Gln(Trt)-OH ≤0.1%
7	N ^α -苄甲氧羰基- 谷氨酸（叔丁酯） 一水物	① 取 H-Glu-OH 对照品适量，精密称定，加 0.1%三氟醋酸水溶液溶解并制成 1 ml 中含 H-Glu-OH 0.1mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Glu(OtBu)-OH 对照品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Glu(OtBu)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Glu-OH ≤0.1% H-Glu(OtBu)-OH ≤0.1%
8	N ^α -苄甲氧羰基- 甘氨酸	取 H-Gly-OH 对照品适量，精密称定，用水溶解并稀释制成 1 ml 中含 H-Gly-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用 DMF 溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Gly-OH ≤0.1%
9	N ^α -苄甲氧羰基- 组氨酸（三苯甲 基）	① 取 H-His-OH 对照品适量，精密称定，加水溶解并制成 1 ml 中含 H-His-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-His(Trt)-OH 对照品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-His(Trt)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-His-OH≤0.1% H-His(Trt)-OH ≤0.1%
10	N ^α -苄甲氧羰基- 异亮氨酸	取 H-Ile-OH 对照品适量，精密称定，用水溶解并稀释制成 1 ml 中含 H-Ile-OH 0.2 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 200 mg 的溶液。	H-Ile-OH ≤0.1%
11	N ^α -苄甲氧羰基- 亮氨酸	取 H-Leu-OH 对照品适量，精密称定，用水溶解并稀释制成 1 ml 中含 H-Leu-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Leu-OH ≤0.1%

12	N ^α -苄甲氧羰基- -N ^ε -叔丁氧羰基- 赖氨酸	① 取 H-Lys-OH 对照品适量，精密称定，加水溶解并制成 1 ml 中含 H-Lys-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Lys(Boc)-OH 对照品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Lys(Boc)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用 DMF 溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Lys-OH ≤0.1%； H-Lys(Boc)-OH ≤0.1%
13	N ^α -苄甲氧羰基- 甲硫氨酸	取 H-Met-OH 对照品适量，精密称定，用水溶解并稀释制成 1 ml 中含 H-Met-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Met-OH ≤0.1%
14	N ^α -苄甲氧羰基- 苯丙氨酸	取 H-Phe-OH 对照品适量，精密称定，用水溶解并稀释制成 1 ml 中含 H-Phe-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用 DMF 溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Phe-OH ≤0.1%
15	N ^α -苄甲氧羰基- 脯氨酸	取 H-Pro-OH 对照品适量，精密称定，用水溶解并稀释制成 1 ml 中含 H-Pro-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Pro-OH ≤0.1%
16	N ^α -苄甲氧羰基- 丝氨酸(叔丁基)	① 取 H-Ser-OH 对照品适量，精密称定，加水溶解并制成 1 ml 中含 H-Ser-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Ser(tBu)-OH 对照品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Ser(tBu)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Ser-OH ≤0.1% H-Ser(tBu)-OH ≤0.1%
17	N ^α -苄甲氧羰基- 苏氨酸(叔丁基)	① 取 H-Thr-OH 对照品适量，精密称定，加水溶解并制成 1 ml 中含 H-Thr-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Thr(tBu)-OH 对照品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Thr(tBu)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	H-Thr-OH ≤0.1% H-Thr(tBu)-OH ≤0.1%

18	N ^α -苄氧羰基-色氨酸（叔丁氧羰基）	① 取 H-Trp-OH 对照品适量，精密称定，加 0.1%三氟醋酸水溶液溶解并制成 1 ml 中含 H-Trp-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Trp(Boc)-OH 对照品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Trp(Boc)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	$\text{H-Trp-OH} \leq 0.20\%$ $\text{H-Trp(Boc)-OH} \leq 0.1\%$
19	N ^α -苄氧羰基-酪氨酸（叔丁基）	① 取 H-Tyr-OH 对照品适量，精密称定，加 0.1%三氟醋酸水溶液溶解并制成 1 ml 中含 H-Tyr-OH 0.1 mg 的对照品溶液。 ② 取 H-Tyr(tBu)-OH 对照品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中各含 H-Tyr(tBu)-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	$\text{H-Tyr-OH} \leq 0.1\%$ $\text{H-Tyr(tBu)-OH} \leq 0.1\%$
20	N ^α -苄氧羰基-缬氨酸	取 H-Val-OH 对照品适量，精密称定，用水溶解并稀释制成 1 ml 中含 H-Val-OH 0.1 mg 的对照品溶液。	取本品适量，精密称定，用 DMF 溶解并稀释制成每 1 ml 中约含 100 mg 的溶液。	$\text{H-Val-OH} \leq 0.1\%$

附录 B
(规范性)
有关物质 II

照高效液相色谱法（《中国药典》2025 年版四部通则 0512）测定。

B.1 仪器及试剂

仪器：高效液相色谱仪（带紫外检测器）、电子天平；

试剂：乙腈（色谱纯）、甲醇（色谱纯）、三氟乙酸（分析纯）、超纯水。

B.2 色谱条件

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂（4.6 mm×250 mm，5 μm）；以 0.1%三氟乙酸溶液为流动相 A，以 0.1%三氟乙酸乙腈溶液为流动相 B，梯度洗脱（梯度程序见下表）；流速为 1.0 ml/min；柱温 30℃；检测波长为 220 nm；进样体积见下表。

B.3 实验步骤

B.3.1 溶剂

除 N^α-苄氧羰基-脯氨酸（Fmoc-Pro）采用水-乙腈-三氟乙酸(57:43:0.1)作溶剂外，其余样品均采用甲醇作为溶剂。

B.3.2 供试品溶液

取本品约 50 mg，精密称定，置 100 ml 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液。

B.3.3 对照溶液

精密量取供试品溶液 1 ml，置 100 ml 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀。

B.3.4 测定

精密量取溶剂、对照溶液与供试品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。

B.3.5 系统适用性

溶剂色谱图中无干扰峰；对照溶液色谱图中主峰信噪比不低于 10。

B.3.6 定量方法

按主成分自身对照法，以供试品溶液中各杂质峰面积与对照溶液主峰面积比计算杂质含量。

B.3.7 限度

供试品溶液中各杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积。

具体限度参见下表。

表 7 20 种保护氨基酸有关物质（HPLC）试验方法及限度表

序号	保护氨基酸	色谱条件				限度
		进样体积 (μl)	洗脱梯度			
			时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	
1	N ^α -苄氧羰基-丙氨酸一水合物	8	0	70	30	Fmoc-β-Ala-Ala-OH（相对保留时间 0.79）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-Ala-Ala-OH（相对保留时间 0.85）≤0.10%
			30.1	70	30	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.92）≤0.10%
			35	70	30	Fmoc-OSu ≤0.10% 单个未知杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
2	N ^α -苄氧羰基-精氨酸（2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基）	8	0	55	45	Fmoc-Arg-OH（相对保留时间 0.26）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.51）≤0.10%
			30.1	55	45	Fmoc-β-Ala-Arg(Pbf)-OH（相对保留时间 0.85）≤0.10%
			35	55	45	Fmoc-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-OH（相对保留时间 1.36）≤0.10% Fmoc-OSu ≤0.10% 单个未知杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
3	N ^α -苄氧羰基-天冬酰胺（三苯甲基）	10	0	50	50	Fmoc-Asn-OH（相对保留时间 0.26）≤0.10%
			20	5	95	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.40）≤0.10%
			25	5	95	Fmoc-β-Ala-Asn(Trt)-OH（相对保留时间 0.85）≤0.10%
			26	50	50	Fmoc-Asn(Trt)-Asn(Trt)-OH（相对保留时间 1.39）≤0.10%
			35	50	50	Fmoc-OSu ≤0.10% 单个未知杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%

序号	保护氨基酸	进样体积 (μl)	色谱条件			限度
			洗脱梯度			
			时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	
4	N ^α -苄甲氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯	20	0	48	52	Fmoc-Asp-OH（相对保留时间 0.41）≤0.10%
			30	0	100	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.53）≤0.10%
			30.1	48	52	Fmoc-β-Ala-Asp(OtBu)-OH（相对保留时间 0.69）≤0.10%
			35	48	52	Fmoc-OSu ≤0.10%
5	N ^α -苄甲氧羰基-半胱氨酸（三苯甲基）	10	0	35	65	Fmoc-Asp-OtBu-OH（相对保留时间 0.96）≤0.10%
			30	0	100	Fmoc-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OH（相对保留时间 1.26）≤0.10%
			30.1	48	52	Fmoc-Asp(OtBu)-OMe（相对保留时间 1.47）≤0.10%
			35	48	52	单个未知杂质≤0.10%
6	N ^α -苄甲氧羰基-谷氨酸（叔丁酯）一水物	20	0	45	55	杂质总量≤1.0%
			30	0	100	
			30.1	45	55	
			35	45	55	

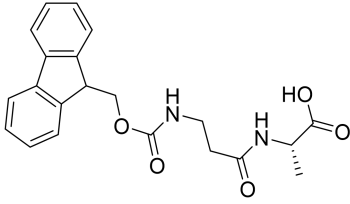
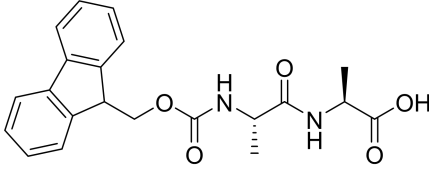
序号	保护氨基酸	进样体积 (μl)	色谱条件			限度
			洗脱梯度			
			时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	
8	N ^α -苄氧羰基-甘氨酸	10	0	70	30	Fmoc-β-Ala-Gly-OH（相对保留时间 0.59）≤0.10%
			15	67	33	Fmoc-Gly-Gly-OH（相对保留时间 0.64）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 1.06）≤1.0%
			30.1	70	30	Fmoc-OSu ≤0.1%
			35	70	30	单个未知杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
9	N ^α -苄氧羰基-组氨酸（三苯甲基）	20	0	70	30	Fmoc-His-OH(相对保留时间 0.45) ≤0.10%
			20	10	90	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.72）≤0.10%
			25	10	90	Fmoc-β-Ala-His(Trt)-OH（相对保留时间 0.94）≤0.10%
			26	70	30	Fmoc-His(Trt)-His(Trt)-OH(相对保留时间 1.25) ≤0.10%
			30	70	30	Fmoc-OSu ≤0.10% 单个未知杂质≤0.20% 杂质总量≤1.0%
10	N ^α -苄氧羰基-异亮氨酸	20	0	50	50	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.54）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-β-Ala-Ile-OH（相对保留时间 0.65）≤0.10%
			30.1	50	50	Fmoc-Ile-Ile-OH（相对保留时间 1.11）≤0.10%
			35	50	50	Fmoc-OSu ≤0.10% 单个未知杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
11	N ^α -苄氧羰基-亮氨酸	10	0	55	45	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.59）≤0.10%
			20	5	95	Fmoc-β-Ala-Leu-OH（相对保留时间 0.73）≤0.10%
			25	5	95	Fmoc-OSu（相对保留时间 0.94）≤0.10%
			26	55	45	Fmoc-Leu-Leu-OH（相对保留时间 1.09）≤0.10%
			32	55	45	单个未知杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%
12	N ^α -苄氧羰基-N ^ε -叔丁氧羰基-赖氨酸	20	0	60	40	Fmoc-Lys-OH(相对保留时间 0.31) ≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.61）≤0.10% Fmoc-β-Ala-Lys(Boc)-OH（相对保留时间 0.80）≤0.10% Boc-Lys(Fmoc)-OH(相对保留时间 0.82) ≤0.10%
			30.1	60	40	Fmoc-OSu ≤0.20% Fmoc-Lys(Boc)-Lys(Boc)-OH(相对保留时间 1.17) ≤0.10%
			35	60	40	Fmoc-Lys(Fmoc)-OH（相对保留时间 1.34）≤0.10% 单个未知杂质≤0.10% 杂质总量≤1.0%

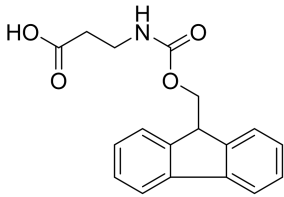
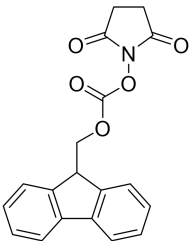
序号	保护氨基酸	色谱条件				限度
		进样体积 (μl)	洗脱梯度			
			时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	
13	N ^α -苄氧羰基-甲 硫氨酸	20	0	75	25	Fmoc-Met(O)-OH（相对保留时间 0.54）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-Met(O)2-OH（相对保留时间 0.70）≤0.10%
			30.1	75	25	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.75）≤0.10%
			35	75	25	Fmoc-β-Ala-Met-OH（相对保留时间 0.82）≤0.10%
14	N ^α -苄氧羰基-苯 丙氨酸	10				Fmoc-Met-Met-OH（相对保留时间 1.05）≤0.10%
						Fmoc-OSu ≤0.10%
						单个未知杂质≤0.10%
						杂质总量≤1.0%
15	N ^α -苄氧羰基-脯 氨酸	20	0	55	45	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.46）≤0.10%
			20	35	65	Fmoc-β-Ala-Phe-OH（相对保留时间 0.69）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-Phe-Phe-OH（相对保留时间 1.27）≤0.10%
			30.1	55	45	Fmoc-OSu ≤0.10%
			35	55	45	单个未知杂质≤0.10%
16	N ^α -苄氧羰基-丝 氨酸（叔丁基）	20				杂质总量≤1.0%
17	N ^α -苄氧羰基-苏 氨酸（叔丁基）	10	0	57	43	Fmoc-β-Ala-Pro-OH（相对保留时间 0.63）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.79）≤0.10%
			30.1	57	43	Fmoc-Pro-Pro-OH（相对保留时间 0.79）≤0.10%
			35	57	43	Fmoc-OSu ≤0.10%
18	N ^α -苄氧羰基-缬 氨酸（叔丁基）	10				单个未知杂质≤0.10%
						杂质总量≤1.0%
19	N ^α -苄氧羰基-亮 氨酸（叔丁基）	10	0	50	50	Fmoc-β-Ala-Pro-OH（相对保留时间 0.63）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.79）≤0.10%
			30.1	50	50	Fmoc-Pro-Pro-OH（相对保留时间 0.79）≤0.10%
			35	50	50	Fmoc-OSu ≤0.10%
20	N ^α -苄氧羰基-异 亮氨酸（叔丁基）	10				单个未知杂质≤0.10%
						杂质总量≤1.0%
21	N ^α -苄氧羰基-苏 氨酸（叔丁基）	10	0	40	60	Fmoc-Ser-OH（相对保留时间 0.39）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.52）≤0.10%
			30.1	40	60	Fmoc-β-Ala-Ser(tBu)-OH（相对保留时间 0.69）≤0.10%
			35	40	60	Fmoc-Ser(tBu)-Ser(tBu)-OH（相对保留时间 1.28）≤0.10%
22	N ^α -苄氧羰基-缬 氨酸（叔丁基）	10				Fmoc-OSu ≤0.10%
						单个未知杂质≤0.10%
						杂质总量≤1.0%
23	N ^α -苄氧羰基-亮 氨酸（叔丁基）	10	0	40	60	Fmoc-Thr-OH（相对保留时间 0.40）≤0.10%
			30	5	95	Fmoc-β-Ala-OH（相对保留时间 0.45）≤0.10%
			30.1	40	60	Fmoc-β-Ala-Thr(tBu)-OH（相对保留时间 0.61）≤0.10%
			35	40	60	Fmoc-Thr(tBu)-Thr(tBu)-OH（相对保留时间 1.77）≤0.10%
24	N ^α -苄氧羰基-苏 氨酸（叔丁基）	10				Fmoc-OSu ≤0.10%
						单个未知杂质≤0.20%
						杂质总量≤1.0%

序号	保护氨基酸	色谱条件				限度
		进样体积 (μl)	洗脱梯度			
			时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)	
18	N $^{\alpha}$ -苄氧羰基-色氨酸（叔丁氧羰基）	10	0	30	70	Fmoc- β -Ala-OH（相对保留时间 0.33） $\leq 0.10\%$ Fmoc-Trp-OH（相对保留时间 0.43） $\leq 0.20\%$ Fmoc- β -Ala-Trp(Boc)-OH（相对保留时间 0.70） $\leq 0.10\%$ Fmoc-Trp(Boc)-Trp(Boc)-OH（相对保留时间 1.94） $\leq 0.10\%$ Fmoc-OSu $\leq 0.10\%$ 单个未知杂质 $\leq 0.20\%$ 杂质总量 $\leq 1.0\%$
			30	5	95	
			30.1	30	70	
			35	30	70	
19	N $^{\alpha}$ -苄氧羰基-酪氨酸（叔丁基）	20	0	40	60	Fmoc-Tyr-OH（相对保留时间 0.40） $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-OH（相对保留时间 0.40） $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-Tyr(tBu)-OH（相对保留时间 0.69） $\leq 0.10\%$ Fmoc-Tyr(tBu)-Tyr(tBu)-OH（相对保留时间 1.53） $\leq 0.10\%$ Fmoc-OSu $\leq 0.10\%$ 单个未知杂质 $\leq 0.10\%$ 杂质总量 $\leq 1.0\%$
			30	5	95	
			30.1	40	60	
			35	40	60	
20	N $^{\alpha}$ -苄氧羰基-缬氨酸	10	0	60	40	Fmoc- β -Ala-OH（相对保留时间 0.45） $\leq 0.10\%$ Fmoc- β -Ala-Val-OH（相对保留时间 0.54） $\leq 0.10\%$ Fmoc-Val-Val-OH（相对保留时间 1.09） $\leq 0.10\%$ Fmoc-Ile-OH（相对保留时间 1.35） $\leq 0.10\%$ Fmoc-Leu-OH（相对保留时间 1.40） $\leq 0.10\%$ Fmoc-OSu $\leq 0.10\%$ 单个未知杂质 $\leq 0.10\%$ 杂质总量 $\leq 1.0\%$
			15	54	46	
			20	52	48	
			30	5	95	
			30.1	60	40	
			35	60	40	

B. 4 保护氨基酸有关物质结构

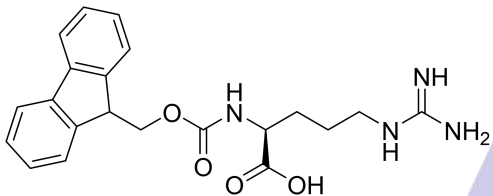
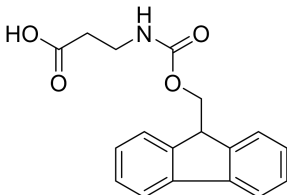
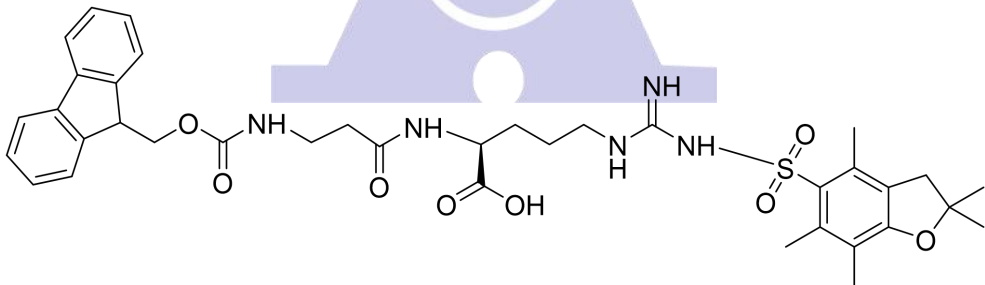
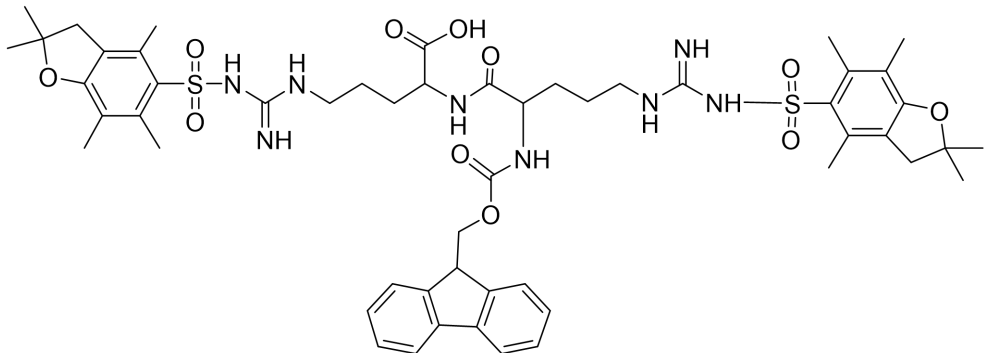
B. 4. 1 N^α-苄氧羰基-丙氨酸一水合物 (Fmoc-Ala-OH · H₂O) 有关物质

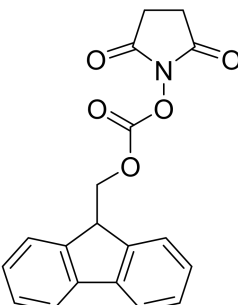
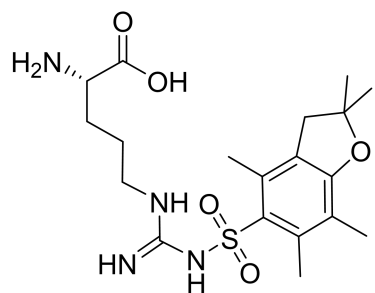
杂质I (Fmoc- β -Ala-Ala-OH)	杂质II (Fmoc-Ala-Ala-OH)
 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$ 382.15	 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5$ 382.15

杂质III (Fmoc-β-Ala-OH)	杂质IV (Fmoc-OSu)
 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10

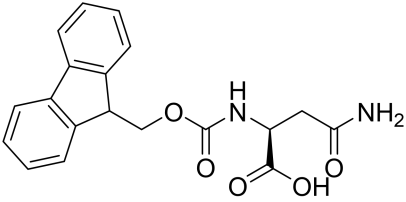
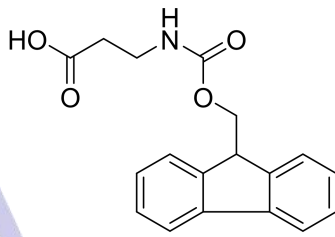
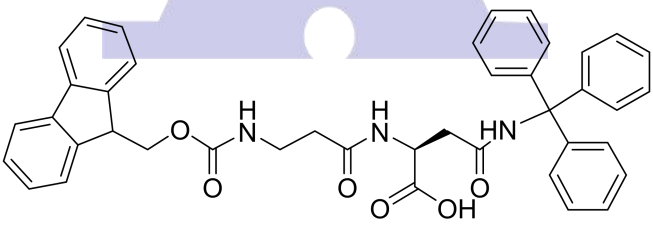
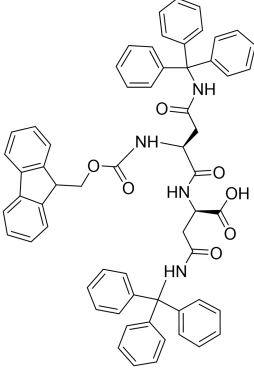
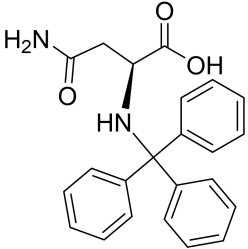
B. 4. 2 N^α-苄氧羰基-精氨酸 (2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基) (Fmoc-Arg (Pbf)

-OH) 有关物质

杂质I (Fmoc-Arg-OH)	杂质II (Fmoc-β-Ala-OH)
 $C_{21}H_{24}N_4O_4$ 396.18	 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III (Fmoc-β-Ala-Arg(Pbf)-OH)	
 $C_{37}H_{45}N_5O_8S$ 719.30	
杂质IV (Fmoc-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-OH)	
 $C_{53}H_{68}N_8O_{11}S_2$ 1056.44	

杂质V (Fmoc-OSu)	杂质VI (H-Arg(Pbf)-OH)
 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10	 $C_{19}H_{30}N_4O_5S$ 426.19

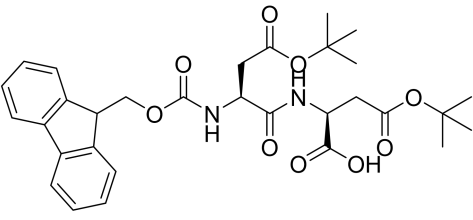
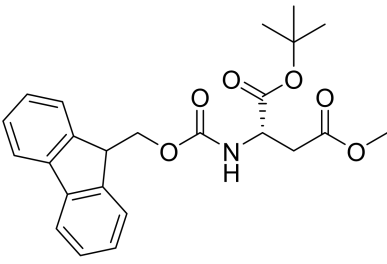
B. 4. 3 N^α-苄氧羰基-天冬酰胺（三苯甲基）（Fmoc-Asn(Trt)-OH）有关物质

杂质I (Fmoc-Asn-OH)	杂质II (Fmoc-β-Ala-OH)
 $C_{19}H_{18}N_2O_5$ 354.12	 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III (Fmoc-β-Ala-Asn(Trt)-OH)  $C_{41}H_{37}N_3O_6$ 667.27	
杂质IV (Fmoc-Asn(Trt)-Asn(Trt)-OH)	杂质V (H-Asn(Trt)-OH)
 $C_{61}H_{52}N_4O_7$ 952.38	 $C_{23}H_{22}N_2O_3$ 374.16

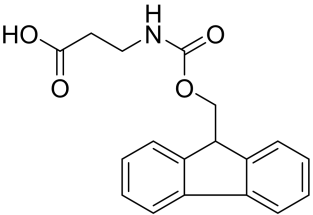
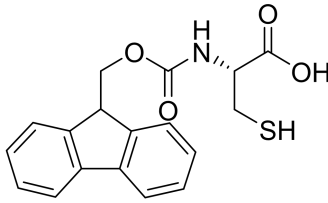
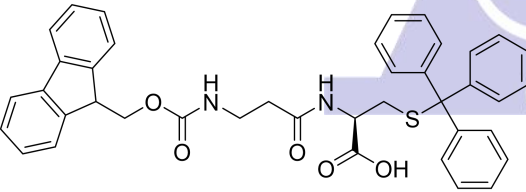
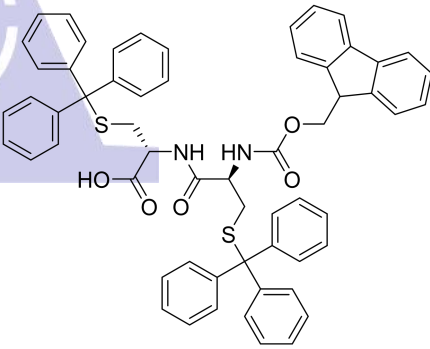
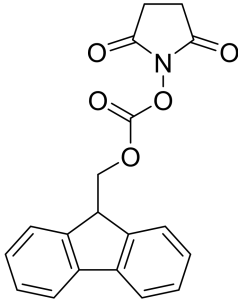
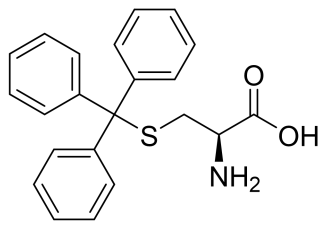
杂质VI (Fmoc-OSu)
$C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10

B. 4. 4 N^α-苄氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯 (Fmoc-Asp(OtBu)有关物质

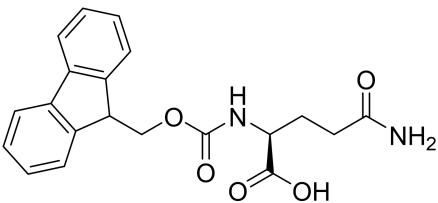
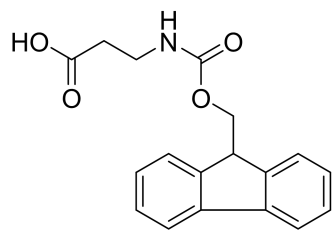
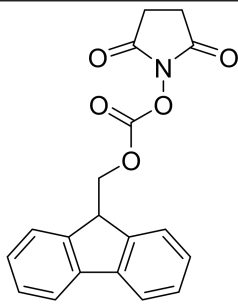
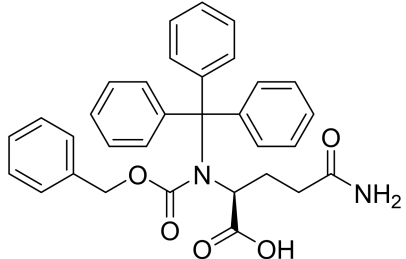
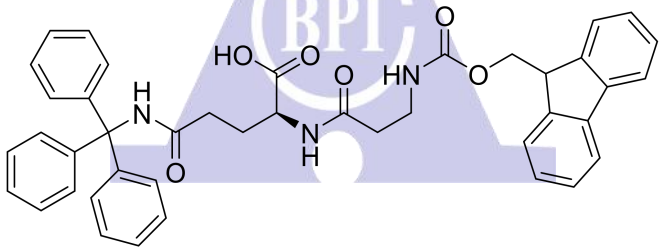
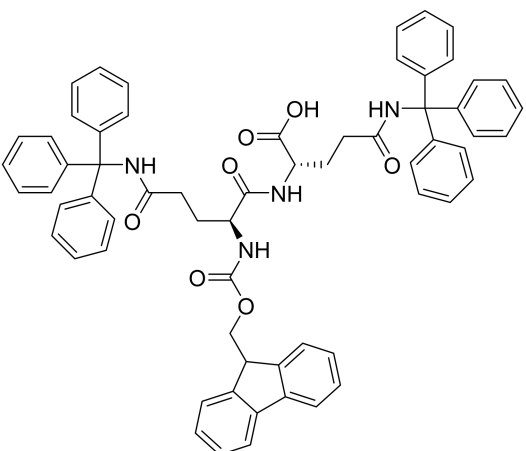
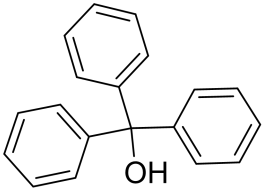
杂质I (Fmoc-Asp-OH)	杂质II (Fmoc-β-Ala-OH)
$C_{19}H_{17}NO_6$ 355.11	$C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III (Fmoc-β-Ala-Asp(OtBu)-OH)	
$C_{26}H_{30}N_2O_7$ 482.21	
杂质IV (Fmoc-OSu)	杂质V (Fmoc-Asp-OtBu)
$C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10	$C_{23}H_{25}NO_6$ 411.17

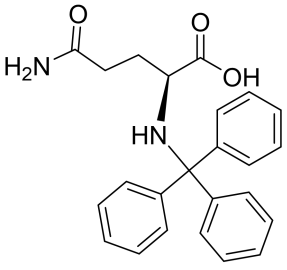
杂质VI (Fmoc-Asp(OtBu)-Asp(OtBu)-OH)	杂质VII (Fmoc-Asp(OtBu)-OMe)
 $C_{31}H_{38}N_2O_9$ 582.26	 $C_{24}H_{27}NO_6$ 425.18

B. 4. 5 N^α-苄氧羰基-半胱氨酸 (三苯甲基) (Fmoc-Cys(Trt)-OH)

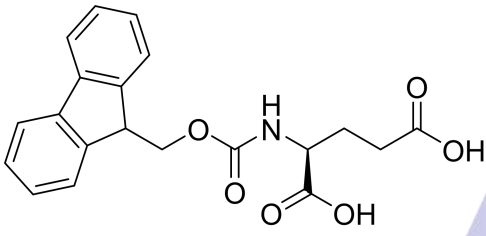
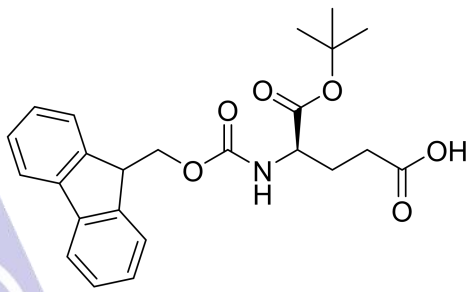
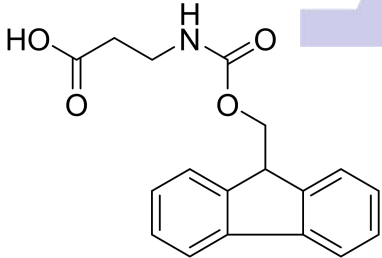
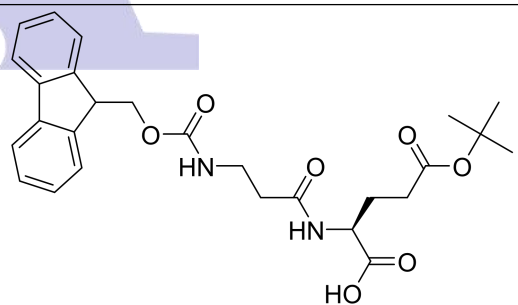
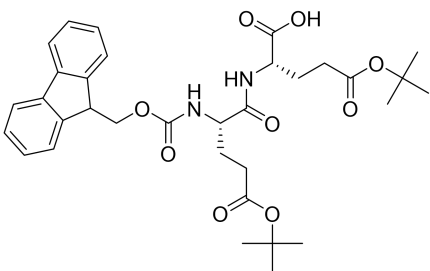
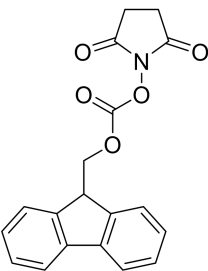
杂质I (Fmoc-β-Ala-OH)	杂质II (Fmoc-Cys-OH)
 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	 $C_{18}H_{17}NO_4S$ 343.09
杂质III (Fmoc-β-Ala-Cys(Trt)-OH)	杂质IV (Fmoc-Cys(Trt)-Cys(Trt)-OH)
 $C_{40}H_{36}N_2O_5S$ 656.23	 $C_{59}H_{50}N_2O_5S_2$ 930.32
杂质V (Fmoc-OSu)	杂质VI (H-Cys(Trt)-OH)
 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10	 $C_{22}H_{21}NO_2S$ 363.13

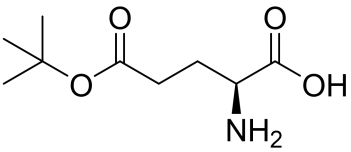
B. 4. 6 N^α-苄氧羰基-N^α-三苯甲基-谷氨酰胺 (Fmoc-Gln(Trt)-OH)

杂质I (Fmoc-Gln-OH)  $C_{20}H_{20}N_2O_5$ 368.14	杂质II (Fmoc-β-Ala-OH)  $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III (Fmoc-OSu)  $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10	杂质IV (Z-Gln(Trt)-OH)  $C_{32}H_{30}N_2O_5$ 522.22
杂质V (Fmoc-β-Ala-Gln(Trt)-OH)  $C_{42}H_{39}N_3O_6$ 681.28	
杂质VI (Fmoc-Gln(Trt)-Gln(Trt)-OH)  $C_{63}H_{56}N_4O_7$ 980.41	杂质VII (Trt-OH)  $C_{19}H_{16}O$ 260.12

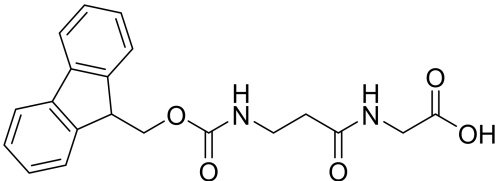
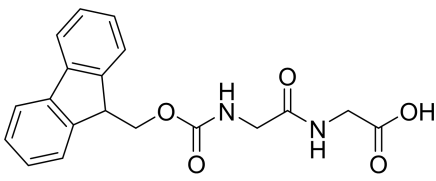
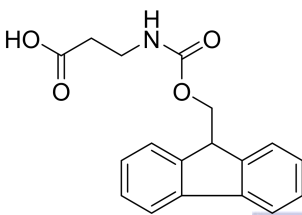
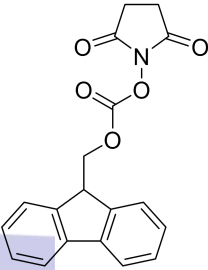
杂质VIII (H-Gln(Trt)-OH)

$C_{24}H_{24}N_2O_3$ 388.18

B. 4. 7 N^α-苄氧羰基-谷氨酸 (叔丁酯) 一水物 (Fmoc-Glu(OtBu)-OH · H₂O)

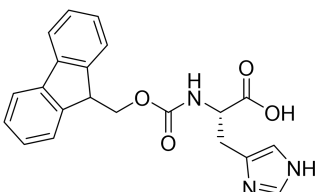
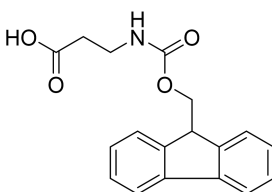
杂质I (Fmoc-Glu-OH)	杂质II (Fmoc-Glu-OtBu)
	
$C_{20}H_{19}NO_6$ 369.12	$C_{24}H_{27}NO_6$ 425.18
杂质III (Fmoc-β-Ala-OH)	杂质IV (Fmoc-β-Ala-Glu(OtBu)-OH)
	
$C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	$C_{27}H_{32}N_2O_7$ 496.22
杂质V (Fmoc-Glu(OtBu)-Glu(OtBu)-OH)	杂质VI (Fmoc-OSu)
	
$C_{33}H_{42}N_2O_9$ 610.29	$C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10

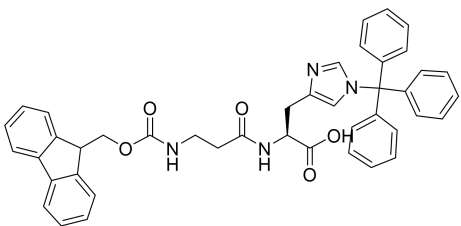
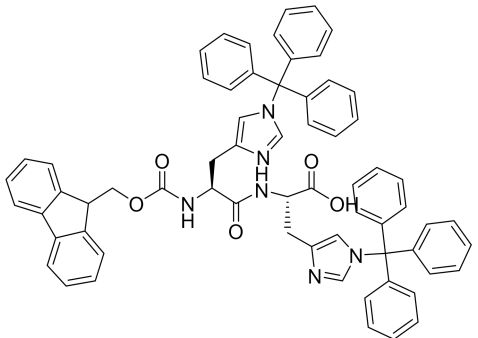
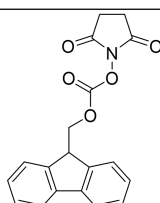
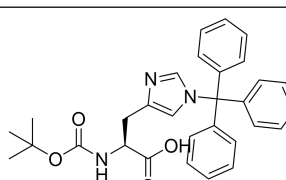
杂质VII (Glu(OtBu)-OH)

$C_9H_{17}NO_4$ 203.12

B. 4. 8 N^α-苄氧羰基-甘氨酸 (Fmoc-Gly-OH) 有关物质

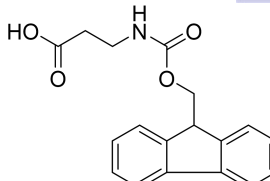
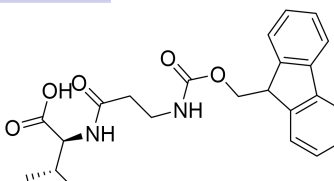
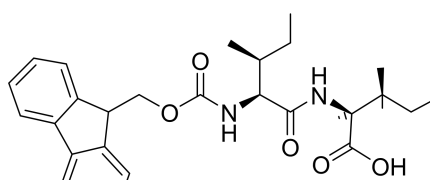
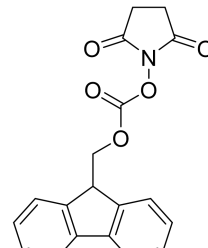
杂质I (Fmoc-β-Ala-Gly-OH)	杂质II (Fmoc-Gly-Gly-OH)
	
$C_{20}H_{20}N_2O_5$ 368.14	$C_{19}H_{18}N_2O_5$ 354.12
杂质III (Fmoc-β-Ala-OH)	杂质IV (Fmoc-OSu)
	
$C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	$C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10

B. 4. 9 N^α-苄氧羰基-组氨酸 (三苯甲基) (Fmoc-His(Trt)-OH)

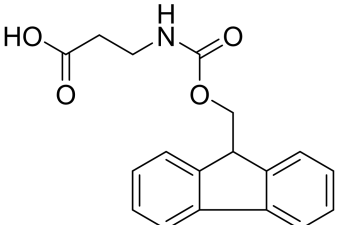
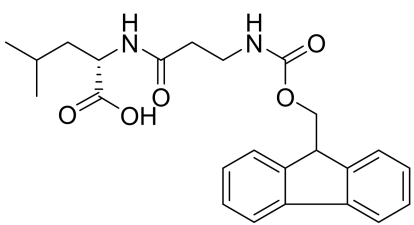
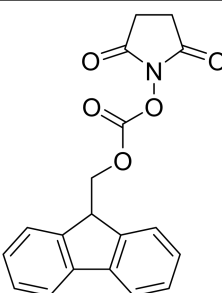
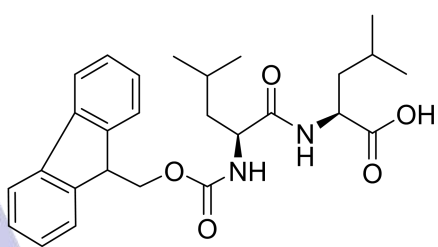
杂质I (Fmoc-His-OH) 有关物质	杂质II (Fmoc-β-Ala-OH)
	
$C_{21}H_{19}N_3O_4$ 377.14	$C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III (Fmoc-β-Ala-His(Trt)-OH)	

 $C_{43}H_{38}N_4O_5$ 690.28	
杂质IV (Fmoc-His(Trt)-His(Trt)-OH)	杂质V (Fmoc-OSu)
 $C_{65}H_{54}N_6O_5$ 998.42	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10
	杂质VI (His(Trt)-OH)  $C_{30}H_{31}N_3O_4$ 497.23

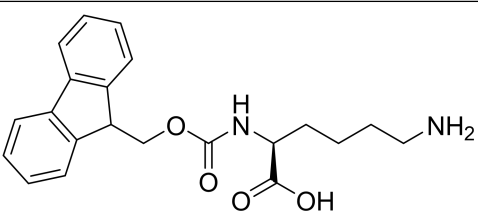
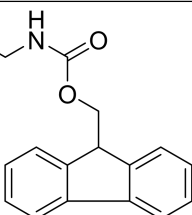
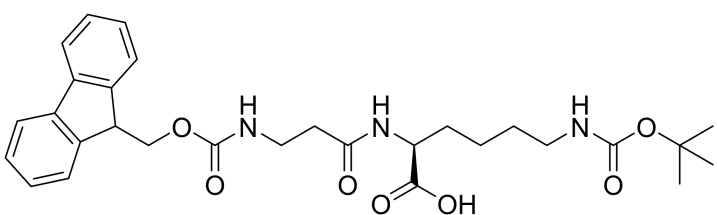
B. 4. 10 N^α-苄氧羰基-异亮氨酸 (Fmoc-Ile-OH)

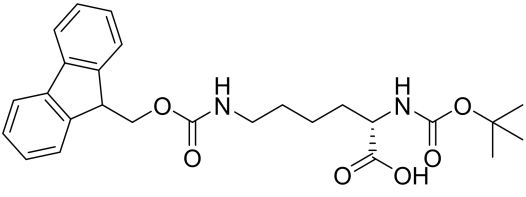
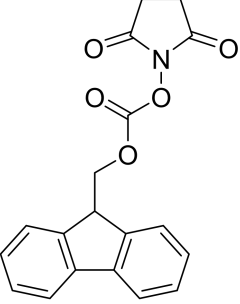
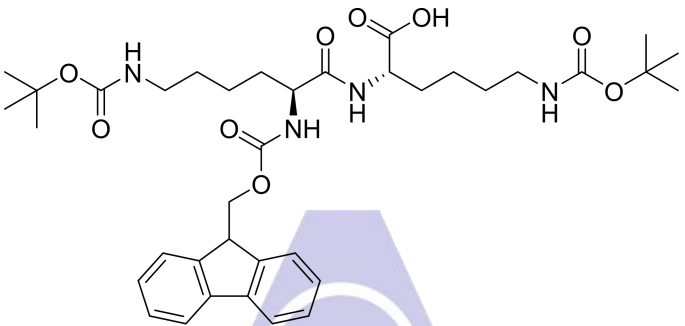
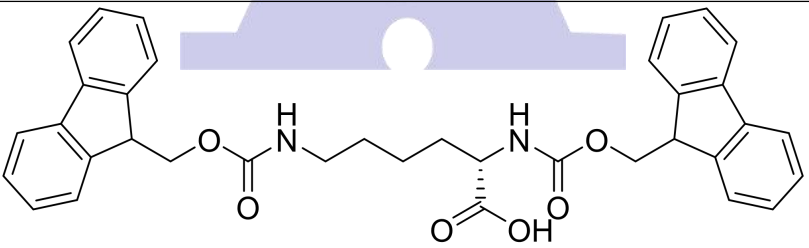
杂质I (Fmoc-β-Ala-OH) 有关物质	杂质II (Fmoc-β-Ala-Ile-OH)
 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	 $C_{24}H_{28}N_2O_5$ 424.20
杂质III (Fmoc-Ile-Ile-OH)	杂质IV (Fmoc-OSu)
 $C_{29}H_{38}N_2O_5$ 494.28	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10

B. 4. 11 N^α-苄氧羰基-亮氨酸 (Fmoc-Leu-OH)

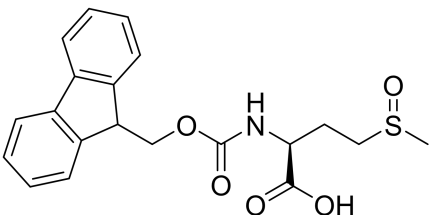
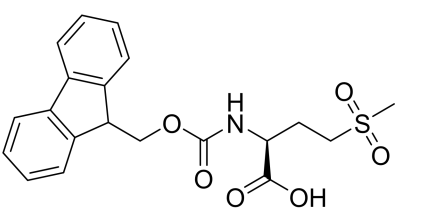
杂质I (Fmoc-β-Ala-OH) 有关物质	杂质II (Fmoc-β-Ala-Leu-OH)
 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	 $C_{24}H_{28}N_2O_5$ 424.20
杂质III (Fmoc-OSu)	杂质IV (Fmoc-Leu-Leu-OH)
 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10	 $C_{27}H_{34}N_2O_5$ 466.25

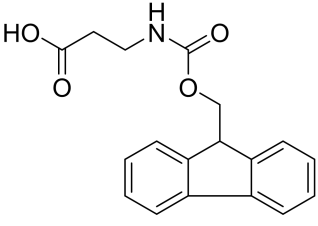
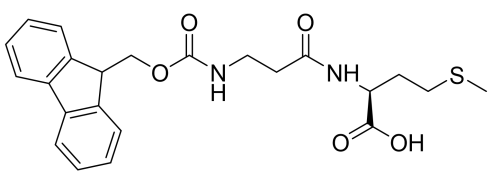
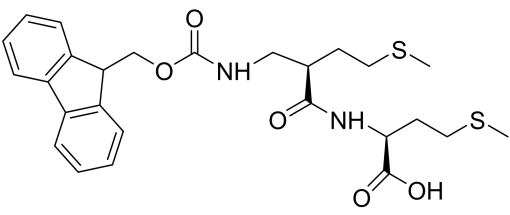
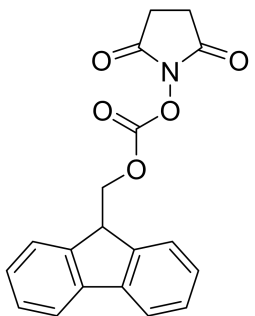
B. 4. 12 N^α-苄氧羰基-N^ε-叔丁氧羰基-赖氨酸 (Fmoc-Lys(Boc)-OH)

杂质I (Fmoc-Lys-OH) 有关物质	杂质II (Fmoc-β-Ala-OH)
 $C_{21}H_{24}N_2O_4$ 368.17	 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III (Fmoc-β-Ala-Lys(Boc)-OH)	
 $C_{29}H_{37}N_3O_7$ 539.26	

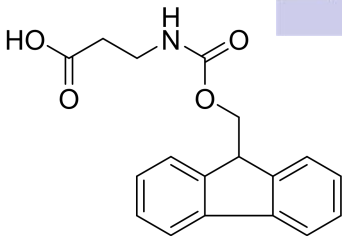
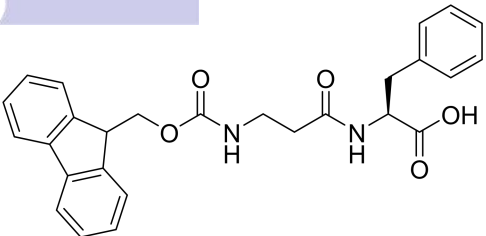
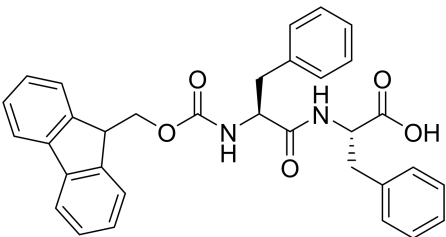
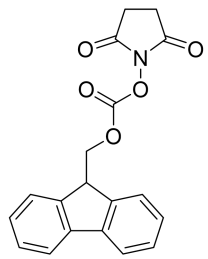
杂质IV (Boc-Lys(Fmoc)-OH)	杂质V (Fmoc-OSu)
 $C_{26}H_{32}N_2O_6$ 468.23	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10
杂质VI (Fmoc-Lys(Boc)-Lys(Boc)-OH)	
 $C_{37}H_{52}N_4O_9$ 696.37	
杂质VII (Fmoc-Lys(Fmoc)-OH)	
 $C_{36}H_{34}N_2O_6$ 590.24	

B. 4. 13 N^α-苄氧羰基-甲硫氨酸 (Fmoc-Met-OH)

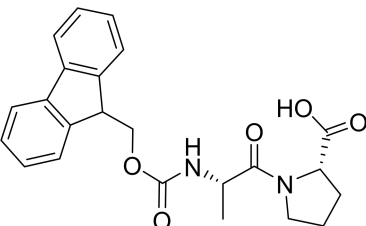
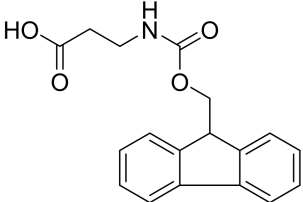
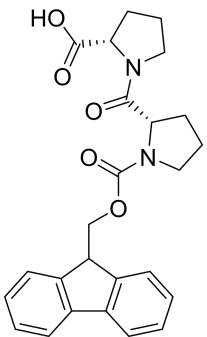
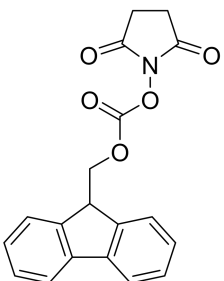
杂质I (Fmoc-Met(O)-OH) 有关物质	杂质II (Fmoc-Met(O) ₂ -OH)
 $C_{20}H_{21}NO_5S$ 387.11	 $C_{20}H_{21}NO_6S$ 403.11

杂质III (Fmoc-β-Ala-OH)	杂质IV (Fmoc-β-Ala-Met-OH)
 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	 $C_{23}H_{26}N_2O_5S$ 442.16
杂质V (Fmoc-Met-Met-OH)	杂质VI (Fmoc-OSu)
 $C_{26}H_{32}N_2O_5S_2$ 516.18	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10

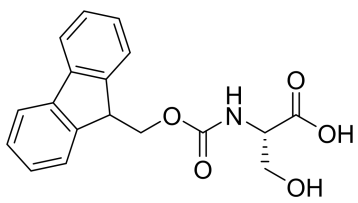
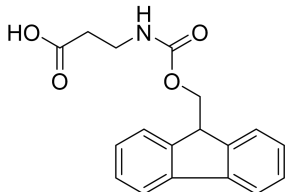
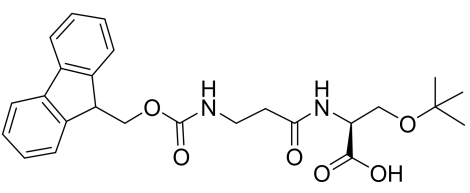
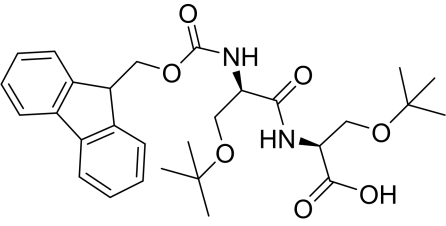
B. 4. 14 N^α-苄氧羰基-苯丙氨酸 (Fmoc-Phe-OH)

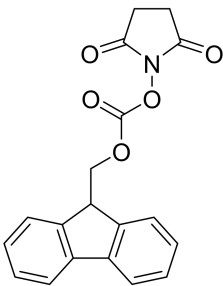
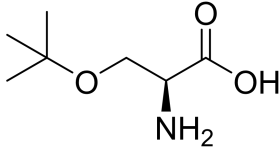
杂质I (Fmoc-β-Ala-OH) 有关物质	杂质II (Fmoc-β-Ala-Phe-OH)
 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	 $C_{27}H_{26}N_2O_5$ 458.18
杂质III (Fmoc-Phe-Phe-OH)	杂质IV (Fmoc-OSu)
 $C_{33}H_{30}N_2O_5$ 534.22	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10

B. 4. 15 N^α-苄氧羰基-脯氨酸 (Fmoc-Pro-OH)

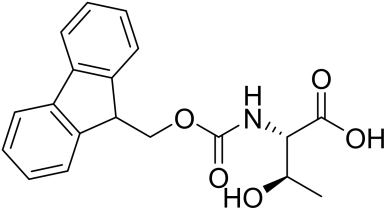
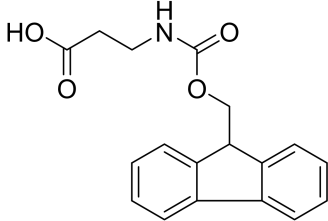
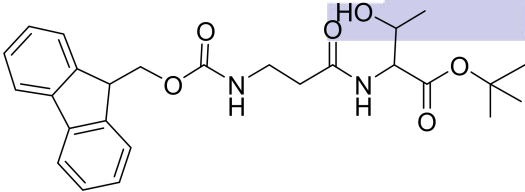
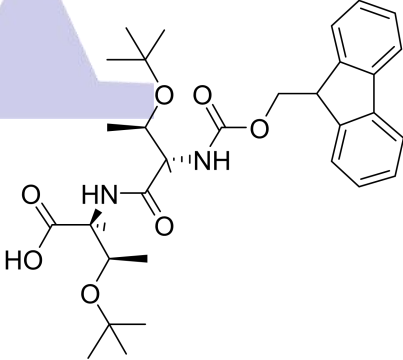
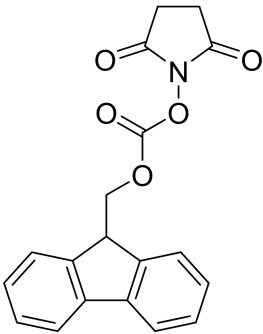
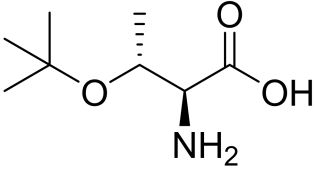
杂质I (Fmoc-β-Ala-Pro-OH) 有关物质	杂质II (Fmoc-β-Ala-OH)
 $C_{23}H_{24}N_2O_5$ 408.17	 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III (Fmoc-Pro-Pro-OH)	杂质IV (Fmoc-OSu)
 $C_{25}H_{26}N_2O_5$ 434.18	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10

B. 4. 16 N^α-苄氧羰基-丝氨酸 (叔丁基) (Fmoc-Ser(tBu)-OH) 有关物质

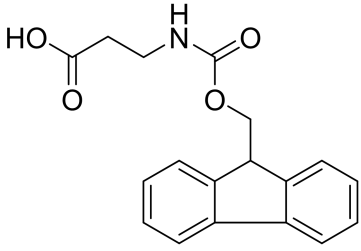
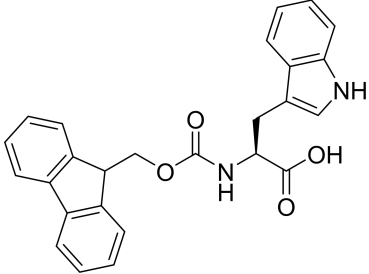
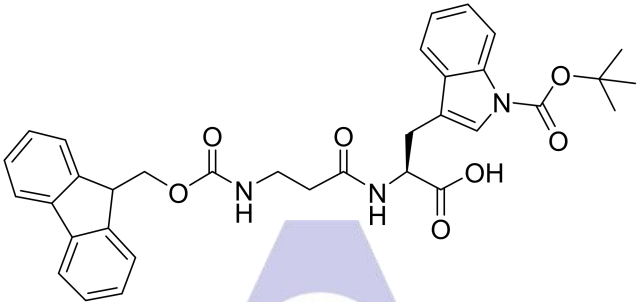
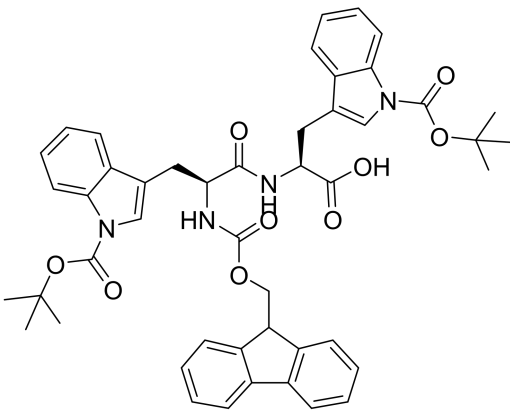
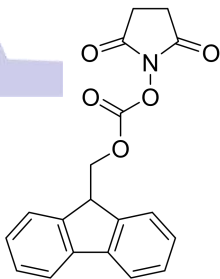
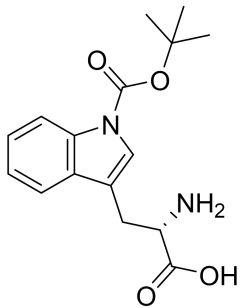
杂质I (Fmoc-Ser-OH)	杂质II (Fmoc-β-Ala-OH)
 $C_{18}H_{17}NO_5$ 327.11	 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III (Fmoc-β-Ala-Ser(tBu)-OH)	杂质IV (Fmoc-Ser(tBu)-Ser(tBu)-OH)
 $C_{25}H_{30}N_2O_6$ 454.21	 $C_{29}H_{38}N_2O_7$ 526.27

杂质V (Fmoc-OSu)	杂质VI (Ser(tBu)-OH)
 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10	 $C_7H_{15}NO_3$ 161.11

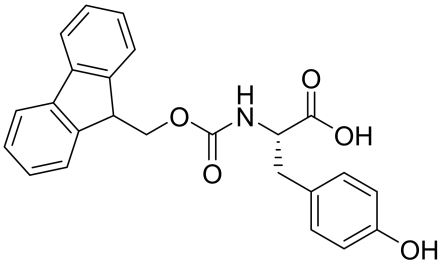
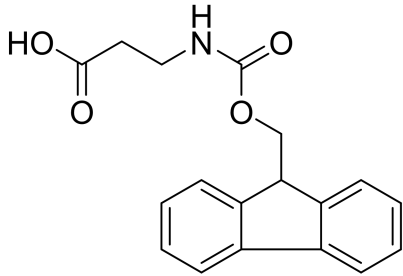
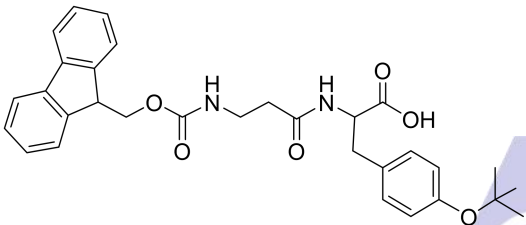
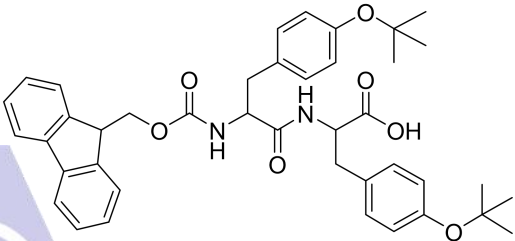
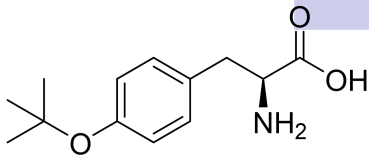
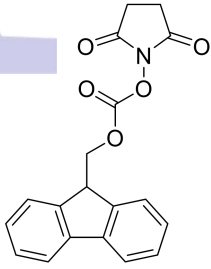
B. 4. 17 N^α-苄氧羰基-苏氨酸(叔丁基) (Fmoc-Thr(tBu)-OH) 有关物质

杂质I (Fmoc-Thr-OH)	杂质II (Fmoc-β-Ala-OH)
 $C_{19}H_{19}NO_5$ 341.13	 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III (Fmoc-β-Ala-Thr(tBu)-OH)	杂质IV (Fmoc-Thr(tBu)-Thr(tBu)-OH)
 $C_{26}H_{32}N_2O_6$ 468.23	 $C_{33}H_{46}N_2O_7$ 582.33
杂质V (Fmoc-OSu)	杂质VI (Thr(tBu)-OH)
 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10	 $C_8H_{17}NO_3$ 175.12

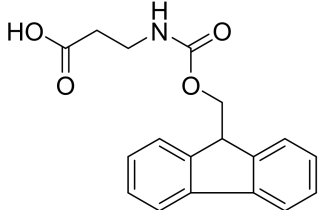
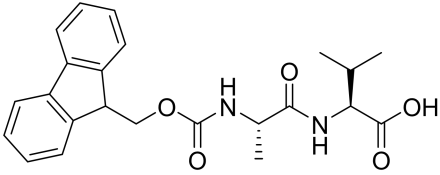
B. 4. 18 N^α-苄氧羰基-色氨酸（叔丁氧羰基）（Fmoc-Trp(Boc)-OH）

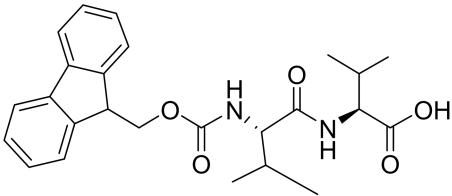
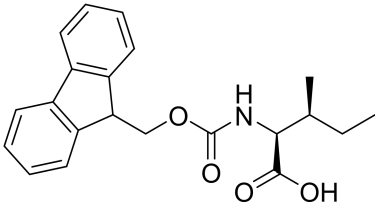
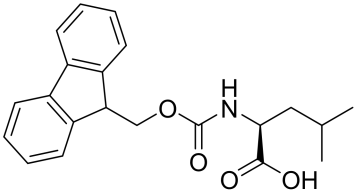
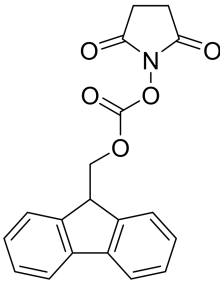
杂质I（Fmoc-β-Ala-OH）有关物质	杂质II（Fmoc-Trp-OH）
 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	 $C_{26}H_{22}N_2O_4$ 426.16
杂质III（Fmoc-β-Ala-Trp(Boc)-OH）	
 $C_{35}H_{37}N_3O_7$ 611.26	
杂质IV（Fmoc-Trp(Boc)-Trp(Boc)-OH）	杂质V（Fmoc-OSu）
 $C_{47}H_{48}N_4O_9$ 812.34	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10
	杂质VI（Trp(Boc)-OH）  $C_{16}H_{20}N_2O_4$ 304.14

B. 4. 19 N^α-苄氧羰基-酪氨酸（叔丁基）（Fmoc-Tyr(tBu)-OH）

杂质I（Fmoc-Tyr-OH）有关物质	杂质II（Fmoc-β-Ala-OH）
 $C_{24}H_{21}NO_5$ 403.14	 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12
杂质III（Fmoc-β-Ala-Tyr(tBu)-OH）	杂质IV（Fmoc-Tyr(tBu)-Tyr(tBu)-OH）
 $C_{31}H_{34}N_2O_6$ 530.24	 $C_{41}H_{46}N_2O_7$ 678.33
杂质V（H-Tyr(tBu)-OH）	杂质VI（Fmoc-OSu）
 $C_{13}H_{19}NO_3$ 237.14	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10

B. 4. 20 N^α-苄氧羰基-缬氨酸（Fmoc-Val-OH）有关物质

杂质I（Fmoc-β-Ala-OH）	杂质II（Fmoc-β-Ala-Val-OH）
 $C_{18}H_{17}NO_4$ 311.12	 $C_{23}H_{26}N_2O_5$ 410.18

杂质III (Fmoc-Val-Val-OH)	杂质IV (Fmoc-Ile-OH)
 $C_{25}H_{30}N_2O_5$ 438.22	 $C_{21}H_{23}NO_4$ 353.16
杂质V (Fmoc-Leu-OH)	杂质VI (Fmoc-OSu)
 $C_{21}H_{23}NO_4$ 353.16	 $C_{19}H_{15}NO_5$ 337.10



附录 C
(规范性)
异构体

照高效液相色谱法（《中国药典》2025 年版四部通则 0512）。

C.1 仪器及试剂

C.1.1 仪器：高效液相色谱仪（配有紫外检测器）、电子天平；

C.1.2 试剂：乙腈（色谱纯）、甲醇（色谱纯）、三氟乙酸（分析纯）、醋酸（分析纯）、醋酸铵（分析纯）、超纯水。

C.2 色谱条件

19 种苄氧羰基保护氨基酸异构体检测使用色谱柱和流动相详见下表。

采用等度洗脱，除 N^α-苄氧羰基-天冬酰胺（三苯甲基）（Fmoc-L-Asn(Trt)）和 N^α-苄氧羰基-组氨酸（三苯甲基）（Fmoc-L-His(Trt)）采用 0.5 ml/min 外，其它苄氧羰基保护氨基酸的检测均采用 1.0 ml/min 流速。

除 N^α-苄氧羰基-天冬酰胺（三苯甲基）（Fmoc-L-Asn(Trt)）采用 25℃柱温外，其它苄氧羰基保护氨基酸的检测均采用 30℃。进样量为 5 μl，检测波长为 254 nm。

C.3 实验步骤

C.3.1 溶剂：甲醇

C.3.2 系统适用性溶液

取消旋体对照品（等质量 L-和 D-型异构体混合制成）适量，精密称定，用甲醇溶解并定量稀释制成每 1 ml 中约含 0.5 mg 的溶液。

C.3.3 供试品溶液

取本品适量，精密称定，用甲醇溶解并定量稀释制成每 1 ml 中约含 0.5 mg 的溶液。

C.3.4 测定

精密量取溶剂、系统适用性溶液与供试品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。照各自色谱条件见下表进行测定。

C.3.5 系统适用性要求

D-和 L-两异构体峰之间的分离度应符合规定。

表 8 19 种保护氨基酸异构体试验色谱柱和流动相条件

序号	茚甲氧羰基保护氨基酸	色谱条件		备注
		色谱柱	流动相 (v/v)	
1	N ^α -茚甲氧羰基-丙氨酸一水合物	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm，5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(65/35)	/
2	N ^α -茚甲氧羰基-精氨酸(2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基)	纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm，5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(40/60)	/
3	N ^α -茚甲氧羰基-天冬酰胺(三苯甲基)	硅胶表面共价键合-O-9-(叔丁酯氨基甲酸酯)奎尼的色谱柱；规格：4.6 mm ×15 cm，5 μm	甲醇-醋酸-醋酸铵(980 ml: 20 ml: 10 g)	柱温 25°C； 流速：0.5 mL/min
4	N ^α -茚甲氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯	纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm，5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(40/60)	/
5	N ^α -茚甲氧羰基-半胱氨酸(三苯甲基)	纤维素-三(4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×15 cm，5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(45/55)	/
6	N ^α -茚甲氧羰基-N ^α -三苯甲基-谷氨酰胺	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm，5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(45/55)	/
7	N ^α -茚甲氧羰基-谷氨酸(叔丁酯)一水物	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm，5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(55/45)	/
8	N ^α -茚甲氧羰基-组氨酸(三苯甲基)	硅胶表面共价键合-O-9-(叔丁酯氨基甲酸酯)奎尼的色谱柱；规格：4.6 mm ×15 cm，5 μm	甲醇-醋酸-醋酸铵(980 ml: 20 ml:10 g)	流速：0.5 mL/min
9	N ^α -茚甲氧羰基-异亮氨酸	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm，5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(58/42)	存在 Fmoc-D-Ile-OH、 Fmoc-D-Allo-Ile-OH、 Fmoc-L-Allo-Ile-OH 三种异构体

10	N ^α -苄甲氧羰基-亮氨酸	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(58/42)	/
11	N ^α -苄甲氧羰基-N ^ε -叔丁氧羰基-赖氨酸	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(55/45)	/
12	N ^α -苄甲氧羰基-甲硫氨酸	纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(40/60)	/
13	N ^α -苄甲氧羰基-苯丙氨酸	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(50/50)	/
14	N ^α -苄甲氧羰基-脯氨酸	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(45/55)	/
15	N ^α -苄甲氧羰基-丝氨酸(叔丁基)	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(55/45)	/
16	N ^α -苄甲氧羰基-苏氨酸(叔丁基)	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(55/45)	存在 Fmoc-D-Thr(tBu)-OH、Fmoc-D-Allo-Thr(tBu)-OH、Fmoc-L-Allo-Thr(tBu)-OH 三种异构体
17	N ^α -苄甲氧羰基-色氨酸(叔丁氧羰基)	纤维素-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(30/70)	/
18	N ^α -苄甲氧羰基-酪氨酸(叔丁基)	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(40/60)	/
19	N ^α -(9-苄甲氧羰基)-L-缬氨酸	纤维素-三(3-氯-4-甲基苯基氨基甲酸酯)为手性选择剂的色谱柱；规格：4.6 mm ×25 cm, 5 μm	0.1%三氟乙酸溶液-乙腈(58/42)	/

C.4 定量方法

以峰面积归一化法计算异构体的含量。

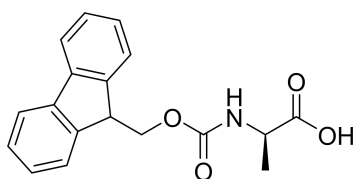
C.5 限度

各单一异构体峰面积均不得大于总峰面积（所有异构体峰面积总和）的 0.001 倍（0.1%）。

C.6 保护氨基酸异构体杂质结构

C.6.1 N^α-苄甲氧羰基-丙氨酸一水合物（Fmoc-Ala-OH·H₂O）异构体：

N^α-苄氧羰基-D-丙氨酸 (Fmoc-D-Ala-OH H₂O)

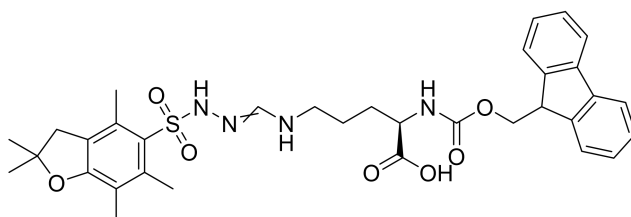


C₁₈H₁₇NO₄ 311.34

C. 6. 2 N^α-苄氧羰基-精氨酸 (2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基) (Fmoc-Arg (Pbf)

-OH) 异构体:

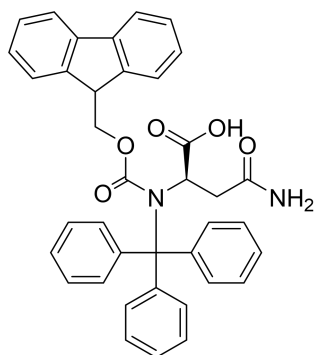
N^α-苄氧羰基-精氨酸 (2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基) (Fmoc-D-Arg(pbf)-OH)



C₃₄H₄₀N₄O₇S 648.78

C. 6. 3 N^α-苄氧羰基-天冬酰胺 (三苯甲基) (Fmoc-Asn(Trt)-OH) 异构体:

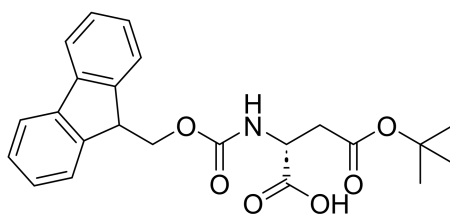
N^α-苄氧羰基-D-天冬酰胺 (三苯甲基) (Fmoc-D-Asn(Trt)-OH)



C₃₈H₃₂N₂O₅ 596.68

C. 6. 4 N^α-苄氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯 (Fmoc-Asp(OtBu)-OH) 异构体:

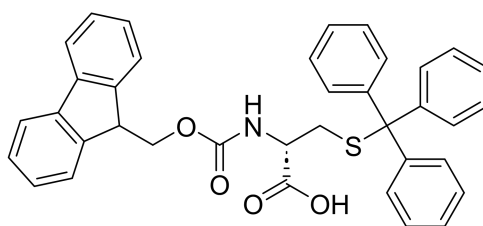
N^α-苄氧羰基-D-天冬氨酸-4-叔丁酯 (FMOC-D-Asp(OtBu)-OH)



C₂₃H₂₅NO₆ 411.45

C. 6. 5 N^α-苄氧羰基-半胱氨酸(三苯甲基) (Fmoc-Cys(Trt)-OH) 异构体:

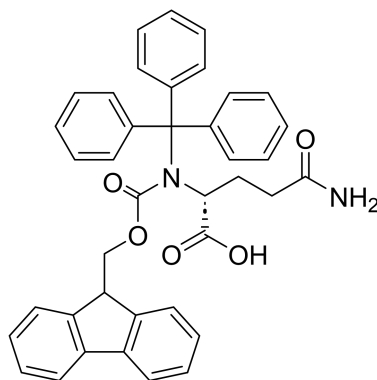
N^α-苄氧羰基-D-半胱氨酸(三苯甲基) (Fmoc-D-Cys(Trt)-OH)



C₃₇H₃₁NO₄S 585.72

C. 6. 6 N^α-苄氧羰基-N^α-三苯甲基-谷氨酰胺 (Fmoc-Gln(Trt)-OH) 异构体:

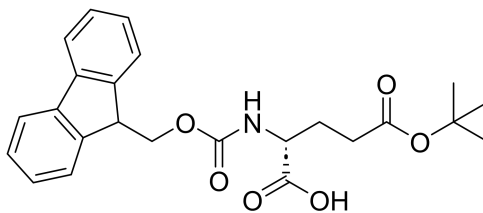
N^α-苄氧羰基-N^α-三苯甲基-D-谷氨酰胺 (Fmoc-D-Gln(Trt)-OH)



C₃₉H₃₄N₂O₅ 610.71

C. 6. 7 N^α-苄氧羰基-谷氨酸 (叔丁酯) 一水物 (Fmoc-Glu(OtBu)-OH·H₂O) 异构体:

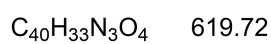
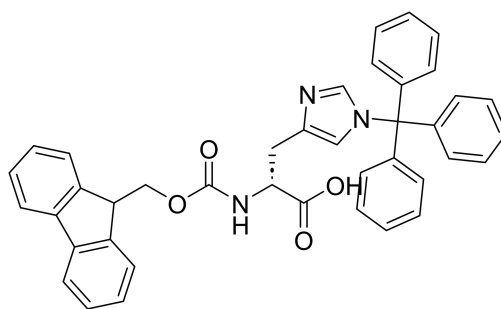
N^α-苄氧羰基-D-谷氨酸 (叔丁酯) 一水物 (Fmoc-D-Glu(OtBu)-OH · H₂O)



C₂₄H₂₇NO₆ 425.48

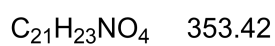
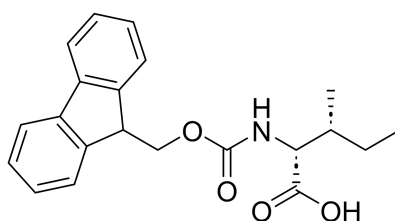
C. 6. 8 N^α-苄氧羰基-组氨酸 (三苯甲基) (Fmoc-His(Trt)-OH) 异构体:

N^α-苄氧羰基-D-组氨酸 (三苯甲基) (Fmoc-D-His(Trt)-OH)

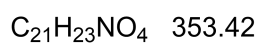
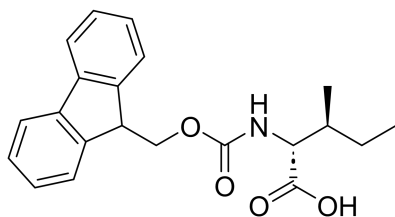


C. 6. 9 N^α-苄氧羰基-异亮氨酸 (Fmoc-Ile-OH) 异构体:

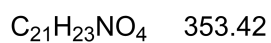
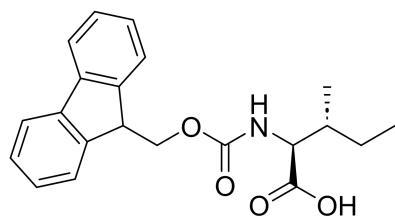
N^α-苄氧羰基-D-异亮氨酸 (Fmoc-D-Ile-OH)



N^α-苄氧羰基-L-别异亮氨酸 (Fmoc-L-Allo-Ile-OH)

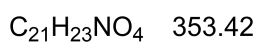
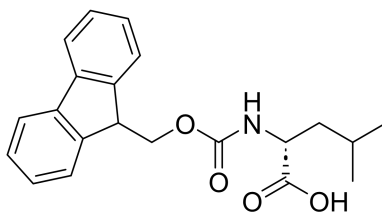


N^α-苄氧羰基-L-别异亮氨酸 (Fmoc-L-Allo-Ile-OH)



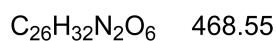
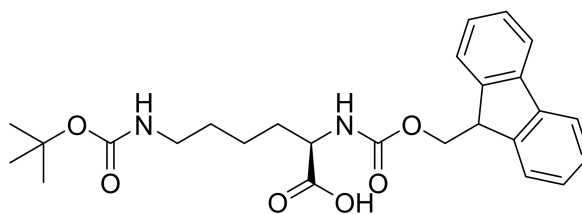
C. 6. 10 N^α-苄氧羰基-亮氨酸 (Fmoc-Leu-OH) 异构体:

N^α-苄氧羰基-D-亮氨酸 (Fmoc-D-Leu-OH)



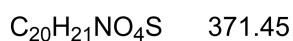
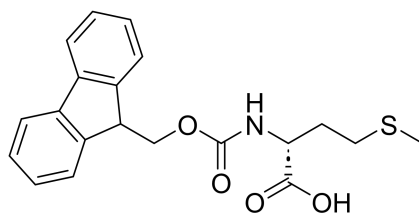
C. 6. 11 N^α-苄氧羰基-N^ε-叔丁氧羰基-赖氨酸 (Fmoc-Lys(Boc)-OH) 异构体:

N^α-苄氧羰基-N^ε-叔丁氧羰基-D-赖氨酸 (Fmoc-D-Lys(BOC)-OH)



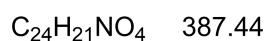
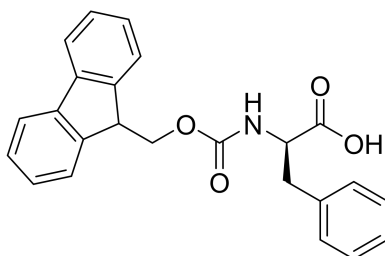
C. 6. 12 N^α-苄氧羰基-甲硫氨酸 (Fmoc-Met-OH) 异构体:

N^α-苄氧羰基-D-甲硫氨酸 (Fmoc-D-Met-OH)



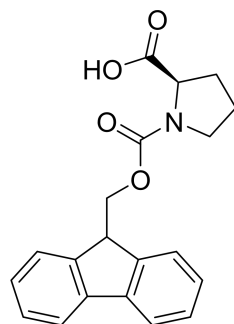
C. 6. 13 N^α-苄氧羰基-苯丙氨酸 (Fmoc-Phe-OH) 异构体:

N^α-苄氧羰基-D-苯丙氨酸 (Fmoc-D-Phe-OH)



C. 6. 14 N^α-苄氧羰基-脯氨酸 (Fmoc-Pro-OH) 异构体:

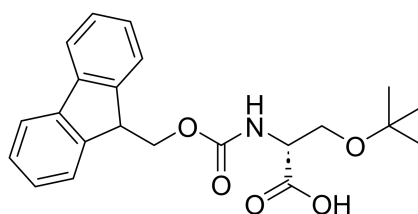
N^α-苄氧羰基-D-脯氨酸 (Fmoc-D-Pro-OH)



$C_{20}H_{19}NO_4$ 337.37

C. 6. 15 N^α-苄氧羰基-丝氨酸（叔丁基）（Fmoc-Ser(tBu)-OH）异构体：

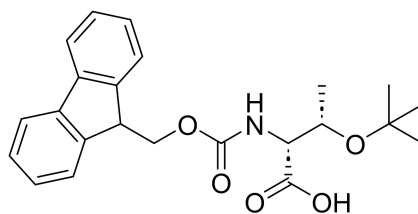
N^α-苄氧羰基-D-丝氨酸(叔丁基)（Fmoc-D-Ser(tBu)-OH）



$C_{22}H_{25}NO_5$ 383.44

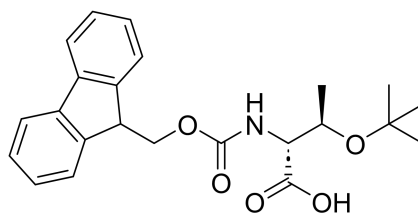
C. 6. 16 N^α-苄氧羰基-苏氨酸（叔丁基）（Fmoc-Thr(tBu)-OH）异构体：

N^α-苄氧羰基-D-苏氨酸（叔丁基）（Fmoc-D-Thr(tBu)-OH）



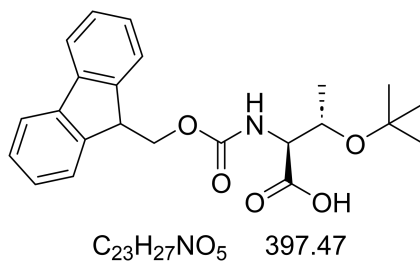
$C_{23}H_{27}NO_5$ 397.47

N^α-苄氧羰基-D-别苏氨酸(叔丁基)（Fmoc-D-Allo-Thr(tBu)-OH）



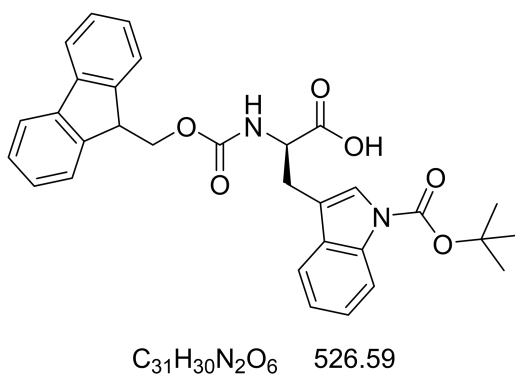
$C_{23}H_{27}NO_5$ 397.47

N^α-苄氧羰基-L-别苏氨酸(叔丁基)（Fmoc-L-Allo-Thr(tBu)-OH）



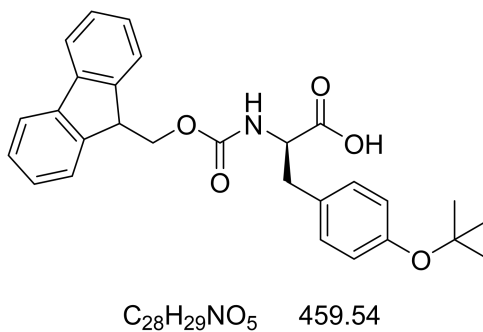
C. 6. 17 N^α-苄氧羰基-色氨酸（叔丁氧羰基）（Fmoc-Trp(Boc)-OH）异构体：

N^α-苄氧羰基-D-色氨酸（叔丁氧羰基）（Fmoc-D-Trp(Boc)-OH）



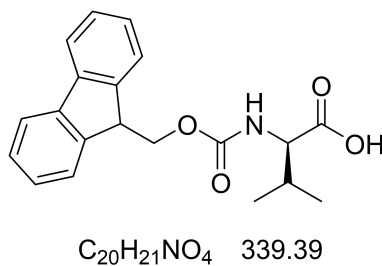
C. 6. 18 N^α-苄氧羰基-酪氨酸（叔丁基）（Fmoc-Tyr(tBu)-OH）异构体：

N^α-苄氧羰基-D-酪氨酸（叔丁基）（Fmoc-D-Tyr(tBu)-OH）

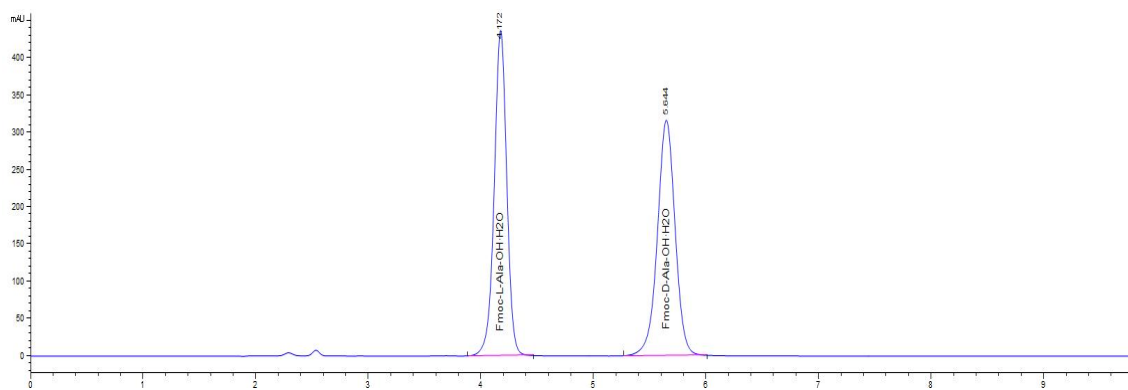
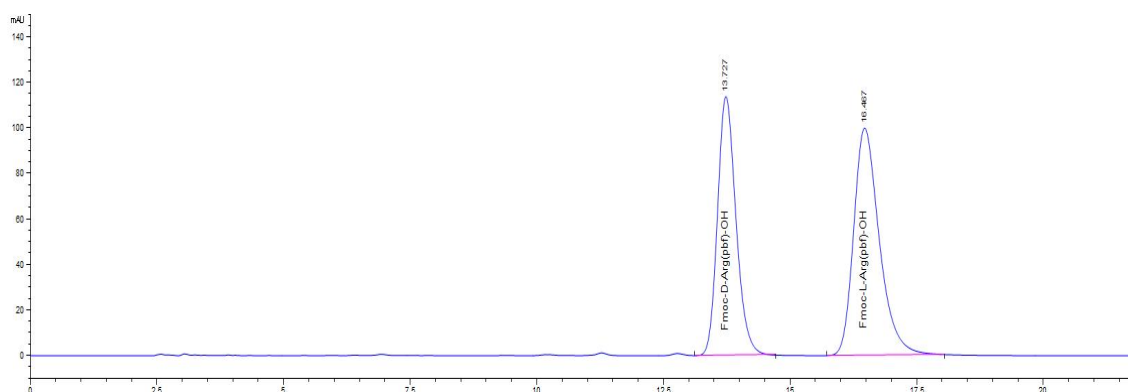


C. 6. 19 N^α-苄氧羰基-缬氨酸（Fmoc-Val-OH）异构体：

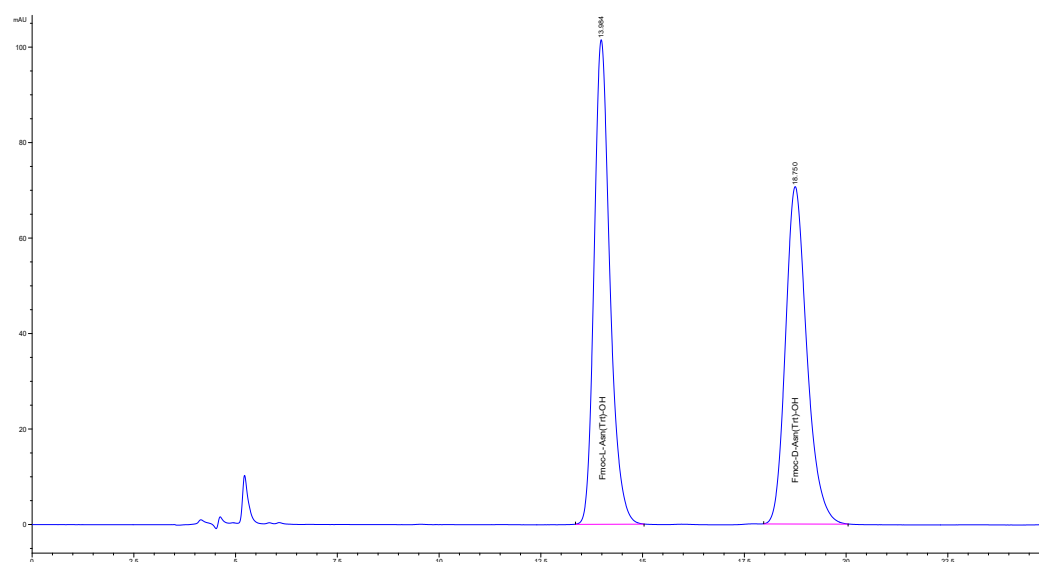
N^α-苄氧羰基-D-缬氨酸（Fmoc-D-Val-OH）

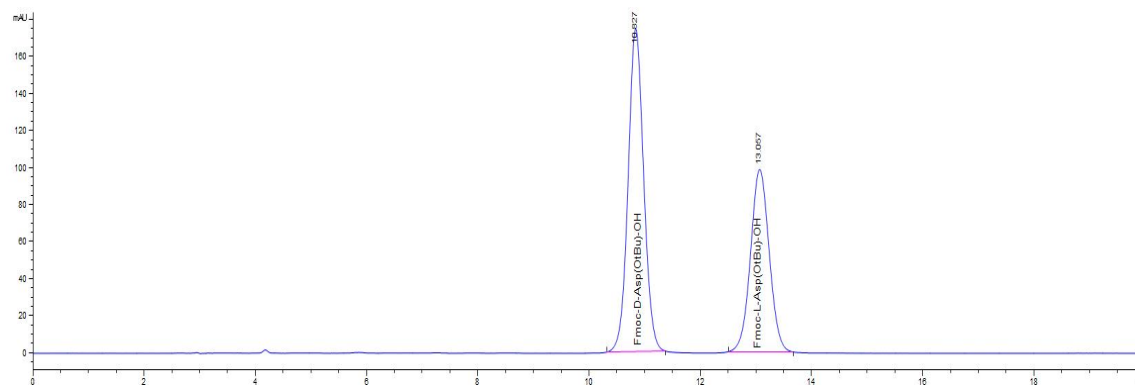
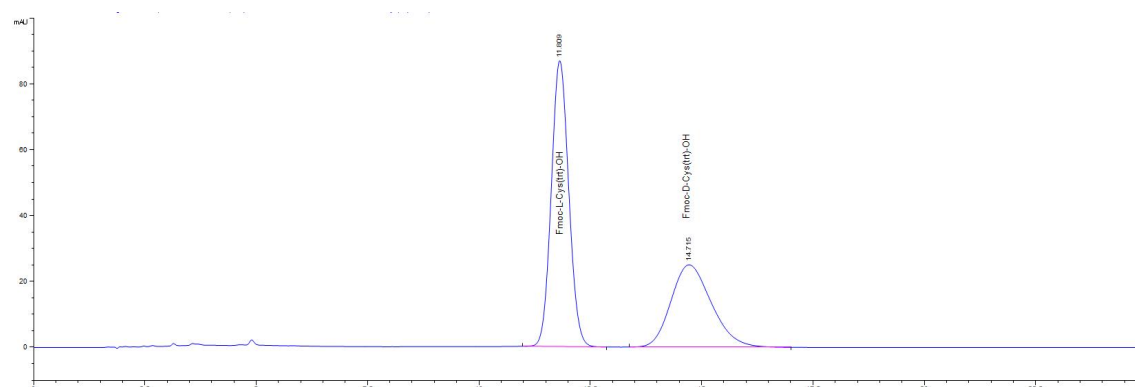
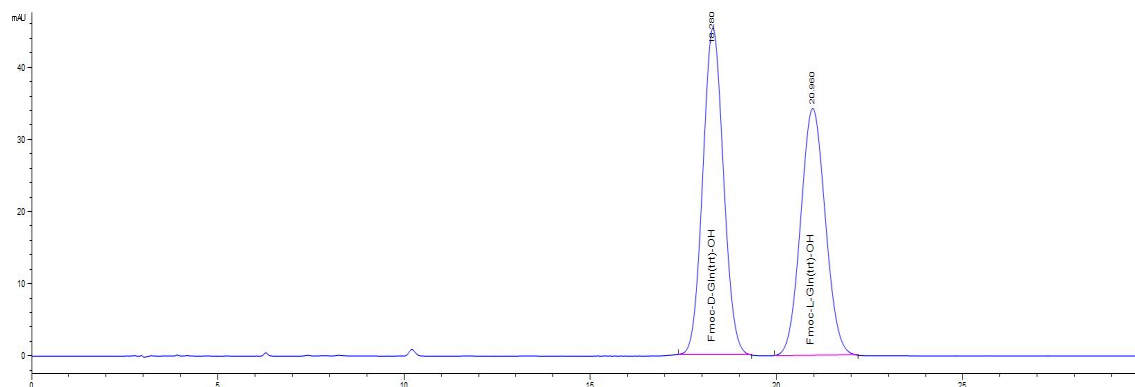


C. 7 系统适用性参考图谱

图 C.7.1 N^α-苄氧羰基-丙氨酸一水合物系统适用性参考图谱图 C.7.2 N^α-苄氧羰基-精氨酸(2,2,4,6,7-五甲基二氧苯并呋喃-5-磺酰基)

系统适用性参考图谱

图 C.7.3 N^α-苄氧羰基-天冬酰胺（三苯甲基）系统适用性参考图谱

图 C.7.4 N^α-苄氧羰基-天冬氨酸-4-叔丁酯系统适用性参考图谱图 C.7.5 N^α-苄氧羰基-半胱氨酸(三苯甲基)系统适用性参考图谱图 C.7.6 N^α-苄氧羰基-N^α-三苯甲基-谷氨酰胺系统适用性参考图谱

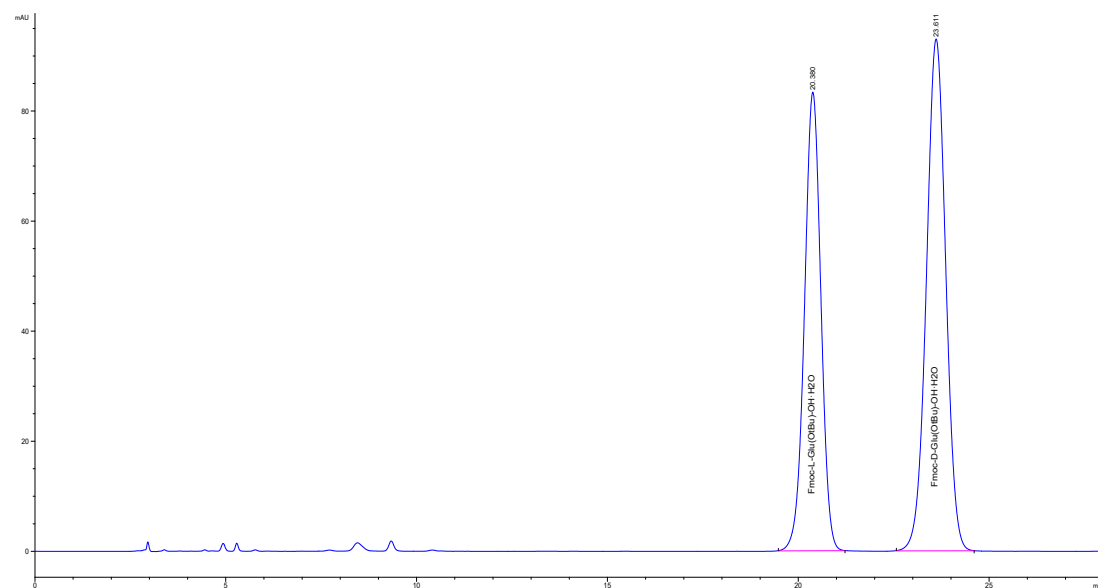


图 C.7.7 N^α-苄氧羰基-谷氨酸（叔丁酯）一水物系统适用性参考图谱

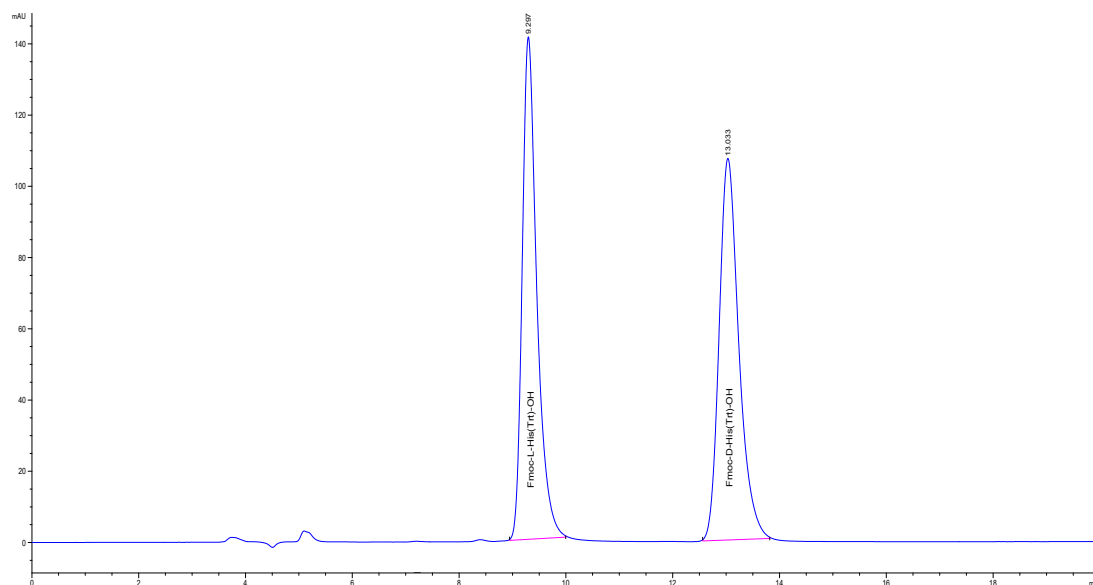
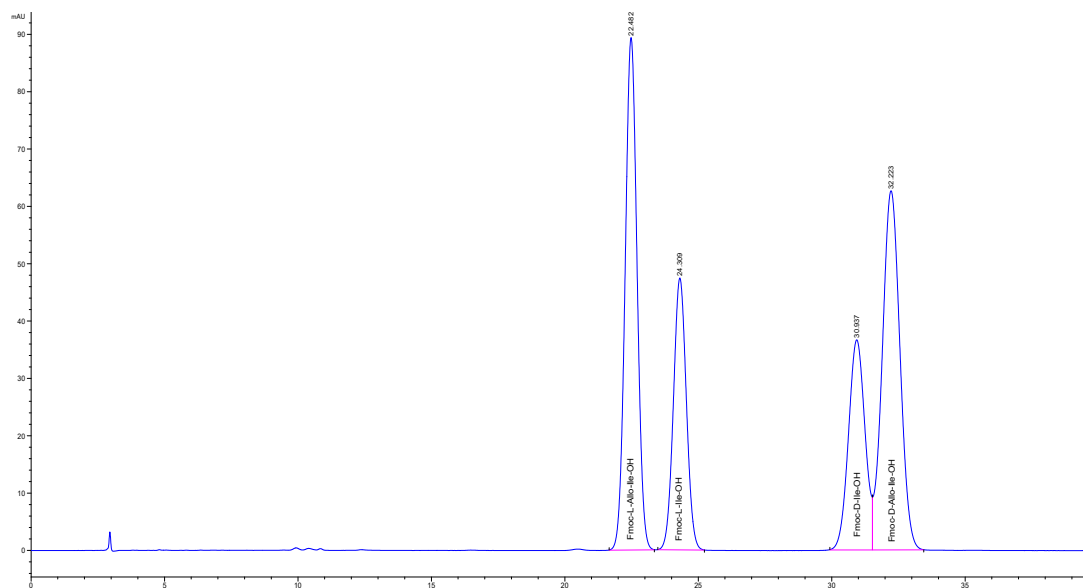
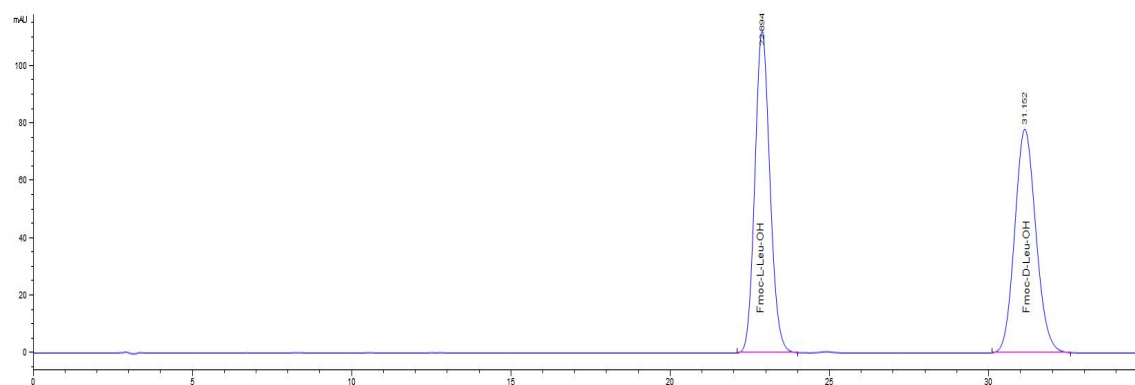
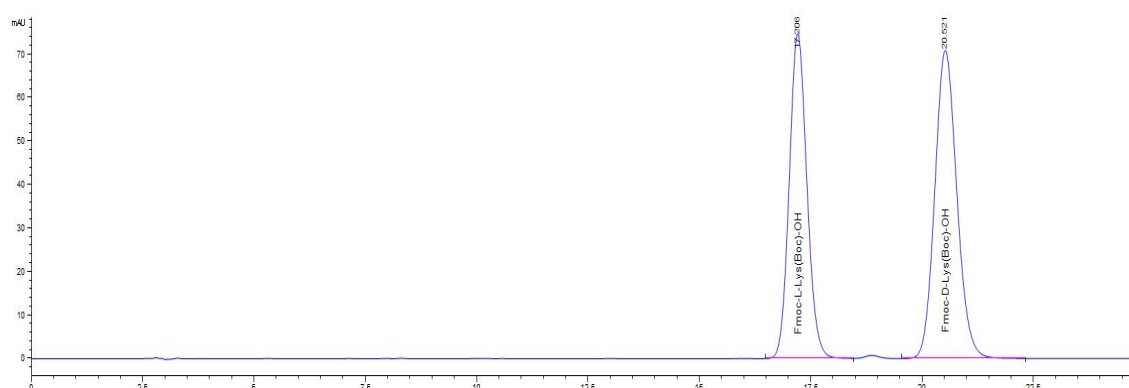
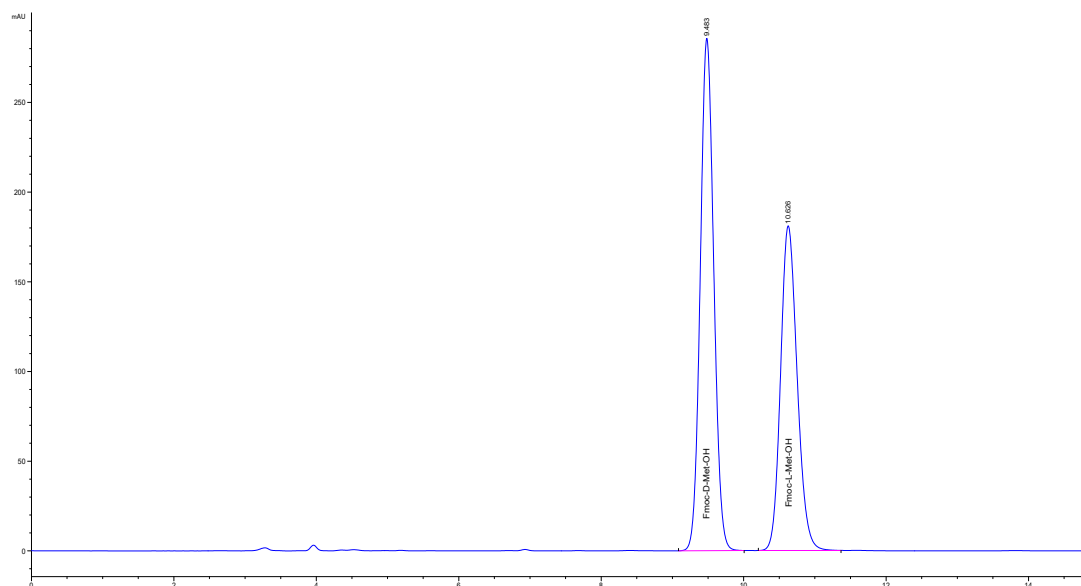
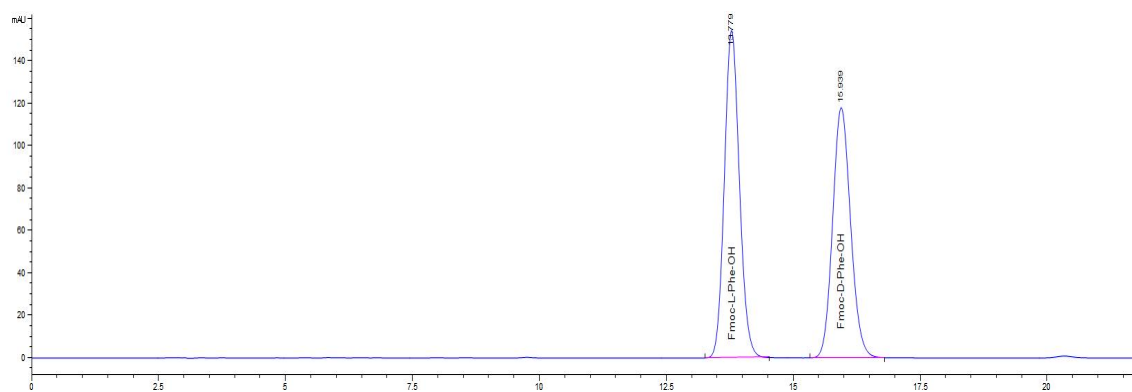
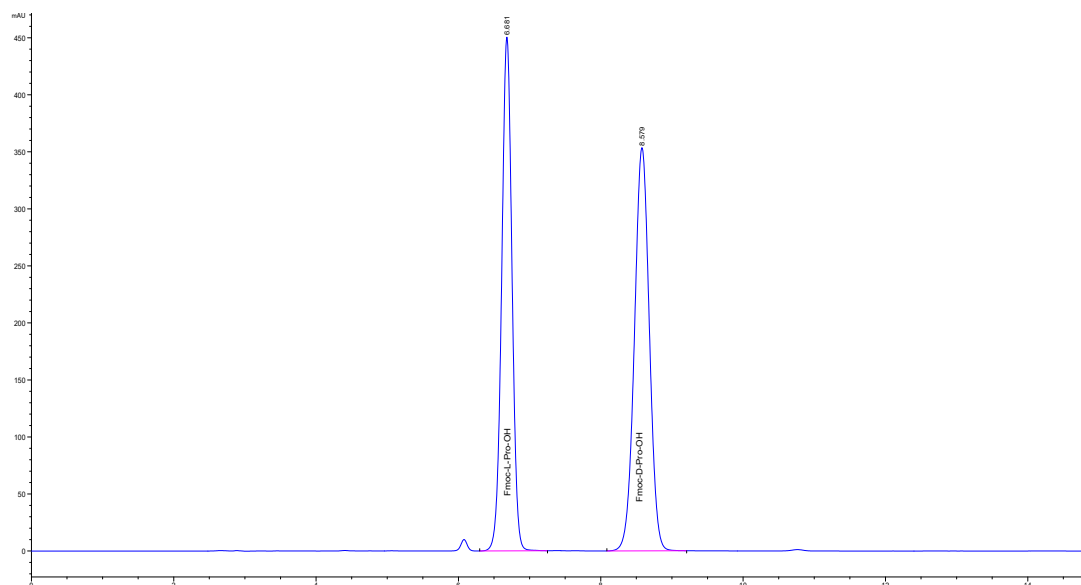
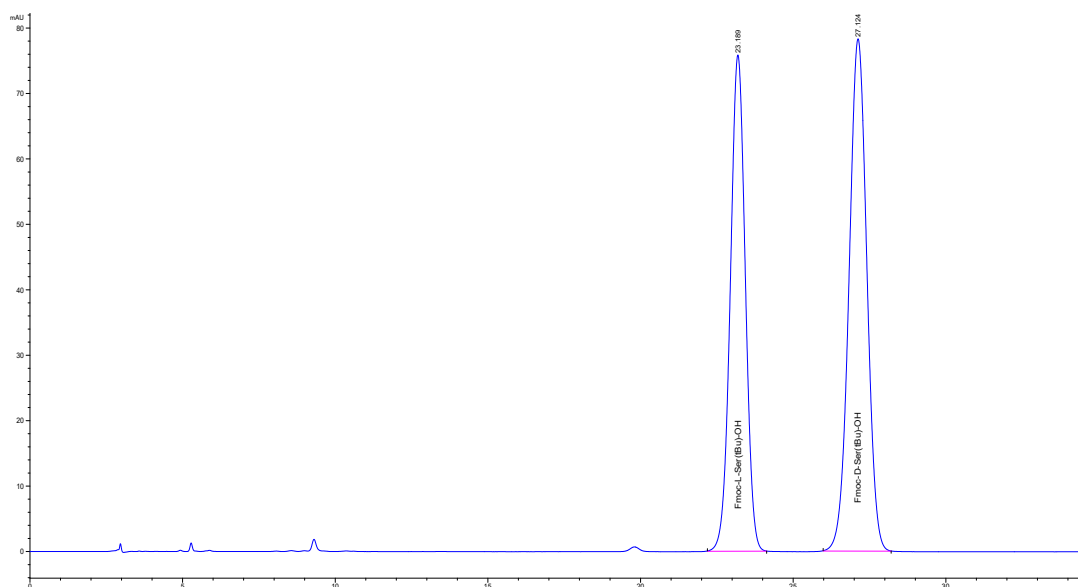
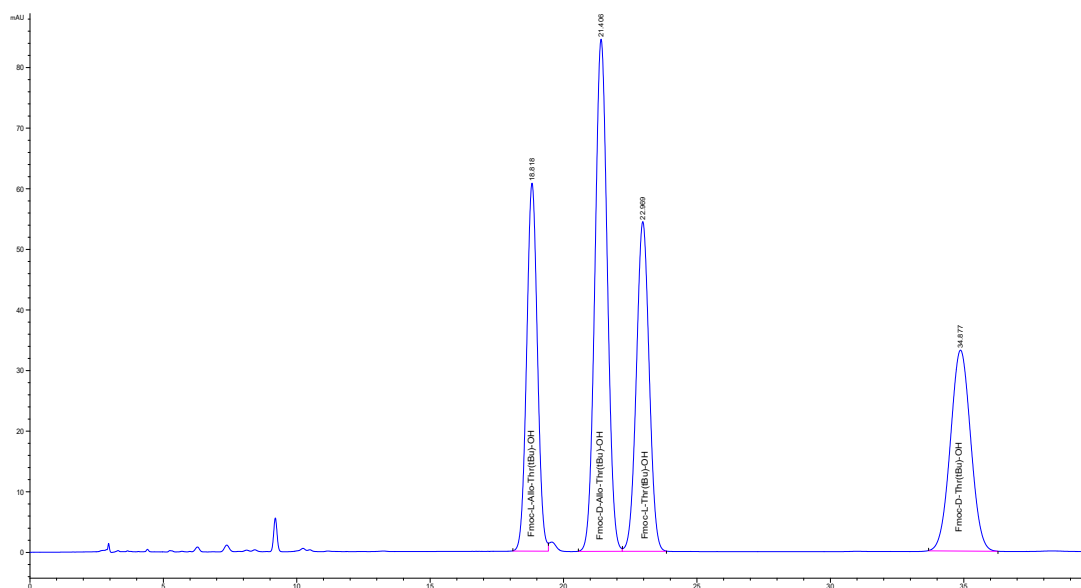
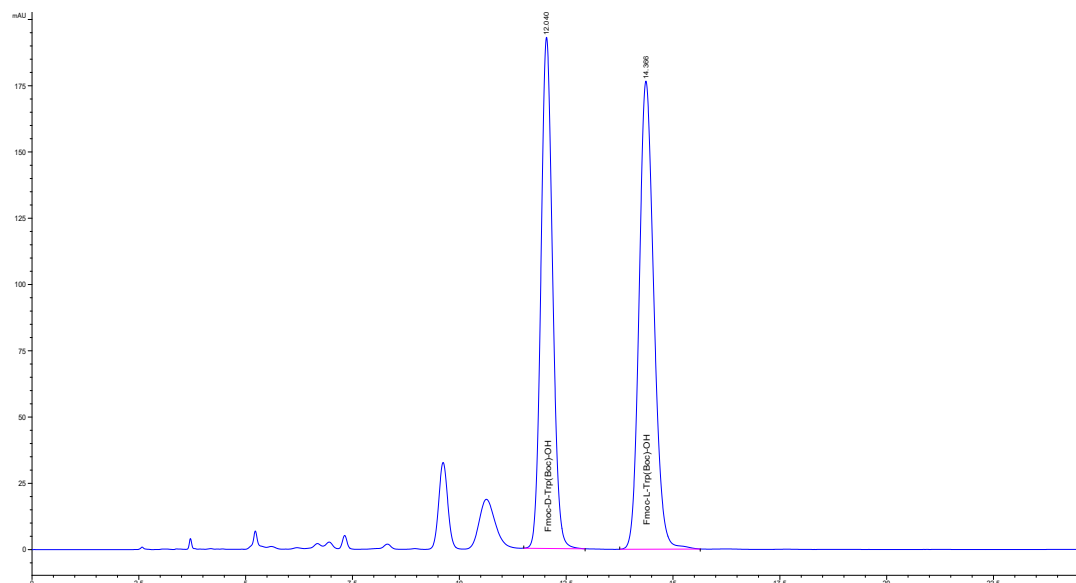
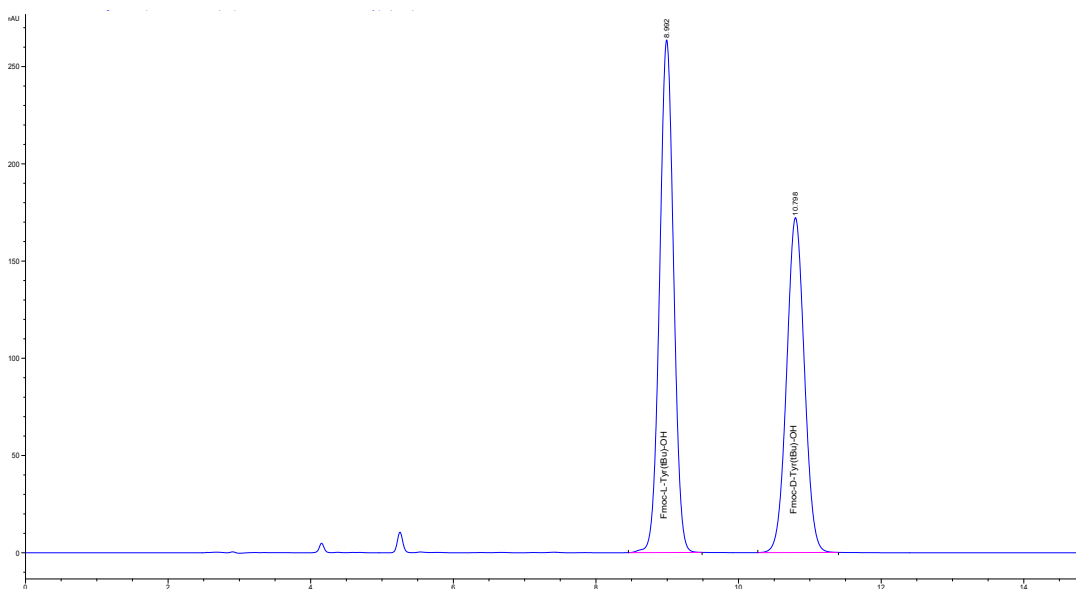
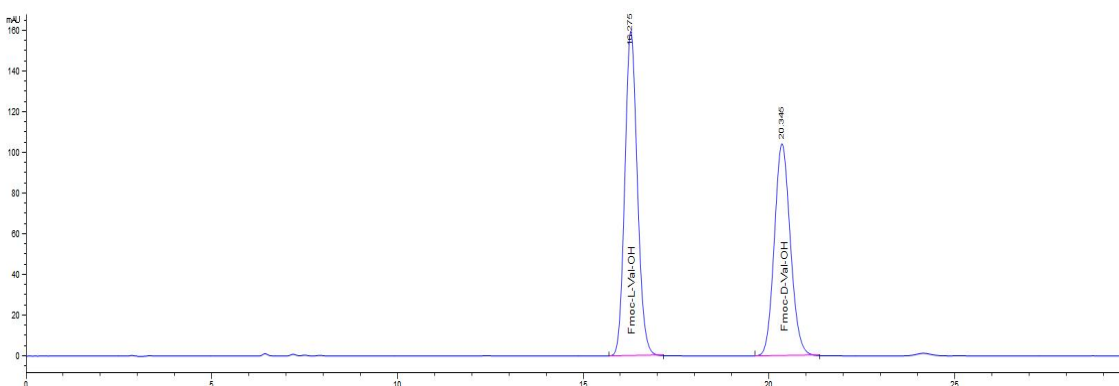


图 C.7.8 N^α-苄氧羰基-组氨酸(三苯甲基)系统适用性参考图谱

图 C.7.9 N^α-苄氧羰基-异亮氨酸系统适用性参考图谱图 C.7.10 N^α-苄氧羰基-亮氨酸系统适用性参考图谱图 C.7.11 N^α-苄氧羰基-N^ε-叔丁氧羰基-赖氨酸系统适用性参考图谱

图 C.7.12 N^α-苄氧羰基-甲硫氨酸系统适用性参考图谱图 C.7.13 N^α-苄氧羰基-苯丙氨酸系统适用性参考图谱图 C.7.14 N^α-苄氧羰基-脯氨酸系统适用性参考图谱

图 C.7.15 N^α-苄甲氧羰基-丝氨酸(叔丁基)系统适用性参考图谱图 C.7.16 N^α-苄甲氧羰基-苏氨酸(叔丁基)系统适用性参考图谱

图 C.7.17 N^α-苄氧羰基-色氨酸(叔丁氧羰基) 系统适用性参考图谱图 C.7.18 N^α-苄氧羰基-酪氨酸(叔丁基)系统适用性参考图谱图 C.7.19 N^α-苄氧羰基-缬氨酸系统适用性参考图谱



多肽合成用 N-苄氧羰基保护氨基酸

T/CBPIA 0014—2025

*

中国生化制药工业协会秘书处

地址：北京市西城区广内大街广义街 5 号广益大厦 B 座 806

电话：010-67046276 传真：010-67046276

邮箱：chinabpia@163.com

网址：<http://www.cbpia.org.cn>

