

T/CBPIA

中国生化制药工业协会团体标准

T/CBPIA 0009—2025

多肽固相合成用聚苯乙烯-二乙烯苯交联树脂

Polystyrene-divinylbenzene Crosslinked Resins for Solid Phase Peptide
Synthesis

(征求意见稿)

2025 - ** - ** 发布

2025 - ** - ** 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.....	1
3 术语与定义、树脂结构图、缩略语.....	1
4 要求.....	4
5 试验方法.....	5
6 检验规则.....	5
7 标识、包装、运输、贮存.....	6
附录 A（规范性） 树脂粒度的测定方法.....	7
附录 B1（规范性） Wang 树脂取代度的测定	8
附录 B2（规范性） 2-氯三苯基甲基氯树脂取代度的测定.....	11
附录 B3（规范性） Rink 类和 Sieber 树脂取代度的测定.....	14
附录 C（规范性） 干燥失重的测定.....	17
附录 D（规范性） 溶胀度的测定.....	18
附录 E（规范性） 茚三酮试验方法.....	19
附录 F（规范性） 红外光谱鉴别方法.....	20

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。

本标准规定的产品为多肽固相合成用聚苯乙烯-二乙烯苯交联树脂，根据产品所带功能基团的不同，分为 Wang 树脂、2-氯三苯甲基氯树脂、Sieber 树脂、Rink Amide-AM 树脂、Rink Amide-MBHA 树脂、Rink Amide 树脂等。

本标准规定了树脂的外观、粒度、取代度、干燥失重、溶胀度、茚三酮试验、红外光谱等检验指标。

本标准的附录 A、附录 B1-B3、附录 C、附录 D、附录 E、附录 F 为检验操作规范性附录。

本标准由天津南开和成科技有限公司，西安蓝晓科技新材料股份有限公司、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：天津南开和成科技有限公司，西安蓝晓科技新材料股份有限公司、南京知和医药科技有限公司、中肽生化有限公司、湖南中晟全肽生物科技股份有限公司、艾美科健（中国）生物医药有限公司。

本标准主要起草人：郑彦慧、张浩、崔强、马玉新、姜鹭…

多肽固相合成用聚苯乙烯-二乙烯苯交联树脂

1 范围

本标准规定了含功能基团的多肽固相合成用聚苯乙烯-二乙烯苯交联树脂的技术要求、试验方法、检验规则及标识、包装、运输、贮存的要求。

本标准适用于含功能基团的多肽固相合成用聚苯乙烯-二乙烯苯交联树脂。

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 5475-2013 离子交换树脂取样方法
- 《中国药典》2020 年版
- GB/T 21649.1-2008 粒度分析 图像分析法 第 1 部分：静态图像分析法
- GB/T 6040-2019 红外光谱分析方法通则
- 《药品生产质量管理规范》（2010 年修订版）

3 术语与定义、树脂结构图、缩略语

3.1 术语与定义

3.1.1 取代度：

是指单位质量树脂中可参与反应的功能基团的数量，单位为 mmol/g。

3.1.2 溶胀度：

是指单位质量树脂在特定溶剂中充分溶胀后的总体积数，单位 ml/g。也可称为膨胀度。

（膨胀率指树脂膨胀后与膨胀前的体积之比。）

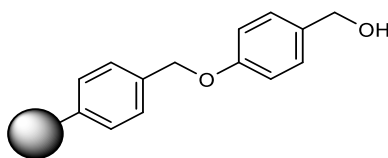
3.1.3 茚三酮试验（也称 Kaiser test）

用茚三酮试剂检测树脂，确认伯胺基是否存在的定性试验。

3.1.4 Wang 树脂（王树脂）

英文名称：Wang resin

键合 4-苄氧基苯甲醇（4-Benzyloxybenzyl Alcohol）基团的树脂称为 Wang 树脂，是多肽固相合成常用树脂之一，主要用于制备 C-端为羧基的多肽。其结构如下：

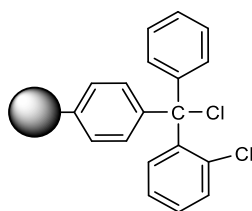


Wang 树脂

3.1.5 2-氯三苯甲基氯树脂（简称 2-CTC 树脂）

英文名称：2-Chlorotrityl Chloride Resin, 2-CTC resin;

键合 2-氯三苯甲基氯（2-Chlorotrityl Chloride）基团的树脂称为 2-CTC 树脂，是多肽固相合成常用树脂之一，主要用于制备 C-端为羧基的多肽。其结构如下：

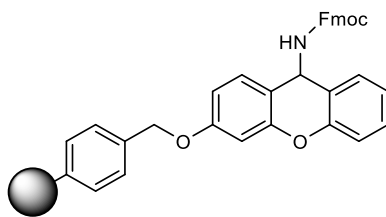


2-氯三苯甲基氯树脂

3.1.6 Sieber 树脂

英文名称：Sieber resin

键合 3-苄氧基-9-芴甲羰酰胺基氧杂蒽（3-benzyloxy-9-Fmoc-amino xanthenyl）基团的树脂称为 Sieber 树脂，是多肽固相合成常用的一种胺基树脂，用于制备 C-端为酰胺的多肽。其结构如下：

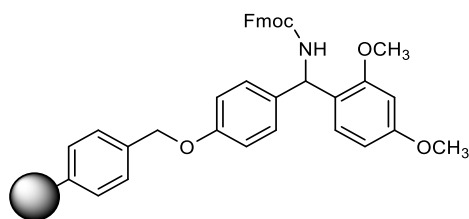


Sieber 树脂

3.1.7 Rink Amide 树脂

英文名称 Rink Amide resin

键合 4-（2',4'-二甲氧基苯基-芴甲羰酰胺甲基）-苯氧基（4-（2',4'-Dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl）phenoxy）基团的树脂称为 Rink Amide 树脂，是一种胺基树脂，用于制备 C-末端为酰胺的多肽。其结构如下：

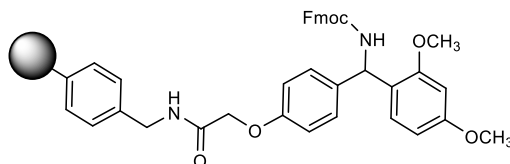


Rink Amide 树脂

3.1.8 Rink Amide-AM 树脂

英文名称 Rink Amide-AM resin

键合 4-(2',4'-二甲氧基苯基-苄氧羰基胺基)-苄氧乙酰胺基-胺甲基(4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl)phenoxyacetamido-aminomethyl)基团的树脂称为 Rink Amide-AM 树脂；是多肽固相合成常用的一种胺基树脂，用于制备 C-末端为酰胺的多肽。其结构如下：

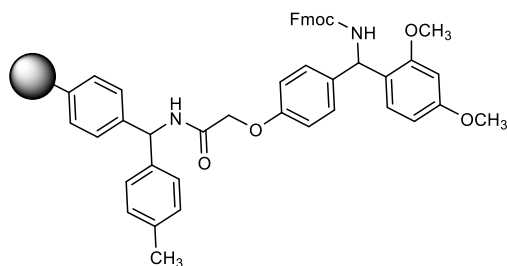


Rink Amide-AM 树脂

3.1.9 Rink Amide-MBHA 树脂

英文名称: Rink Amide-MBHA resin

键合 4-(2',4'-二甲氧基苯基-苄氧羰基胺基)-苄氧乙酰(对甲基二苯甲基)苄胺基(4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl)phenoxyacetyl(4'-methyl diphenyl methyl)benzylamino)基团的树脂称为 Rink Amide-MBHA 树脂；是多肽固相合成常用的一种胺基树脂，用于制备 C-末端为酰胺的多肽。其结构如下：



Rink Amide-MBHA 树脂

注：3.1.7 至 3.1.9 三种树脂常称为 Rink 类树脂。

3.1.10 树脂规格：是指具有特定性能参数（粒度、取代度、溶胀度等）的某一款树脂。与一般产品规格的概念不同的是，树脂规格参数由客户和生产厂家共同商议确定。

3.2 缩略语

简称	全称	CAS 号
DCM	二氯甲烷	75-09-2
DMF	二甲基甲酰胺	68-12-2
BOP	苯并三唑-1-二(三氨基)磷-六氟磷酸酯	56602-33-6
HOBt	1-羟基苯并三唑	2592-95-2
DIPEA	N,N-二异丙基乙胺	7087-68-5
DIC	1,3-二异丙基碳二亚胺	693-13-0
DMAP	4-二甲氨基吡啶	1122-58-3
哌啶	六氢吡啶	110-89-4

4 要求

4.1 一般要求：各树脂的技术要求应符合下表中的规定

树脂名称 指标名称	Wang 树脂	2-CTC 树脂	Sieber 树脂
外观	类白色至黄色微球	黄色微球	类白至浅黄色微球
粒度 (100-200 目/75-150 μm)	$\geq 90\%$	$\geq 90\%$	$\geq 90\%$
取代度 (mmol/g) (紫外法检测)	0.4-2.0	0.4-2.0	0.2-1.0
干燥失重 (%)	≤ 2.0	≤ 2.0	≤ 2.0
DCM 中溶胀度 (ml/g)	4.0-10.0	3.0-9.0	4.5-8.5
DMF 中溶胀度 (ml/g)	4.0-8.0	3.0-6.0	4.0-7.0
茚三酮试验			阴性
红外光谱	与标准谱图一致	与标准谱图一致	与标准谱图一致

树脂名称 指标名称	Rink Amide 树脂	Rink Amide-AM 树脂	Rink Amide-MBHA 树脂
外观	类白色至浅黄/粉色微球	类白色至浅黄色微球	类白至浅黄色微球
粒度 (100-200 目/75-150 μm)	$\geq 90\%$	$\geq 90\%$	$\geq 90\%$
取代度 (mmol/g) (紫外法检测)	0.3-1.0	0.3-1.0	0.3-1.0
干燥失重 (%)	≤ 2.0	≤ 2.0	≤ 2.0

DCM 中溶胀度 (ml/g)	4.5—8.5	4.5—10.0	5.0—10.0
DMF 中溶胀度 (ml/g)	4.0—8.0	4.0—8.0	4.5—8.0
茛三酮试验	阴性	阴性	阴性
红外光谱	与标准谱图一致	与标准谱图一致	与标准谱图一致

注：关于取代度和溶胀度范围的说明（以 Wang 树脂为例）

（1）取代度：表中给出的取代度范围 0.4—2.0mmol/g 是目前该树脂覆盖的最大取代度范围。产品的具体规格会根据客户的不同需求来确定。

（2）溶胀度：DCM 溶胀度 4.0—10.0ml/g，是对应取代度 0.4—2.0mmol/g 所有规格 Wang 树脂。特定产品的具体规格由客户与厂家商议确定。DMF 溶胀度意义同 DCM。

（3）超出本标准规格的可与厂家协商定制。

4.2 特殊要求

如客户有要求，可参照《中国药典》进行残留溶剂、元素杂质等的检测。

5 试验方法

5.1 外观

采用目测方法检查。

5.2 粒度

树脂粒度依法（附录 A）测定。

5.3 取代度的测定

Wang 树脂取代度依法（附录 B1）测定。

2-CTC 树脂取代度依法（附录 B2）测定。

Rink 类和 Sieber 树脂取代度依法（附录 B3）测定。

5.4 干燥失重

依法（附录 C 或其他适宜方法）测定。

5.5 溶胀度

依法（附录 D）测定。

5.6 茛三酮试验

依法（附录 E）试验。

5.7 红外光谱

依法（附录 F）试验。

6 检验规则

6.1 组批与抽样

6.1.1 由于产品批量不同，产品以同一时间同一反应容器生产的为一批。

6.1.2 样品在包装单元中抽取。所抽样品应能反映总体的真实情况。抽样量应满足重复测试和留样的需要。每批按包装单元的 $\sqrt{n}+1$ （出现小数按照四舍五入法取整数，n=批次总包装单元数）随机抽取样品，当 $n \leq 3$ 时，各袋取样。

6.2 出/入厂检验

6.2.1 本标准中 4.1 中所列项目均为出厂检验项目。每批产品必须由本单位质量检验部门进行检验，并保证出厂的产品符合本标准要求，每批产品都应附有质量检验报告单。

6.2.2 使用单位如需对收到的产品进行检验，建议按本标准进行。检验应在收到产品一个月内进行（2-CTC 树脂应在收到产品 2 周内进行）。

6.3 结果判定

若某项检验结果不符合本标准规定时，应重新自该批产品两倍量的包装中取样进行检验。重新检验的结果，即使只有一项指标不符合本标准时，则整批产品判为不合格。

6.4 复验期

2-CTC 树脂复验期为一年，其余产品复验期为三年。超过复验期，可按本标准规定进行复验，若复验结果仍符合本标准要求，仍可使用。

7 标识、包装、运输、贮存

7.1 标识

每一包装件上应有清晰、牢固的标识，标明产品的名称、规格、批号、净重、厂名、厂址。

7.2 包装

产品的常用包装有四种：

- （1）双层塑料袋密封后，放入包装盒或包装桶中。
- （2）双层真空塑料袋抽真空密封后，再用铝箔袋密封，放入包装盒或包装桶中。
- （3）双层塑料袋密封后，再用铝箔袋密封，放入包装盒或包装桶中。
- （4）塑料瓶或者玻璃瓶密闭封装。

客户如有特殊包装要求，按客户要求进行。每一包装件净重依用户需求。

7.3 贮存、运输

上述树脂贮存温度均为 0-10°C，于干燥处密封贮存，注意避光。

上述产品均可常温运输，贮存与运输过程中应避免潮湿和玷污，避免与酸、碱、热源接触。

上述产品均为非危险品。

附录 A
(规范性)
树脂粒度的测定方法

A.1 范围

本标准适用于多肽固相合成聚苯乙烯-二乙烯苯交联树脂的粒度测定。

A.2 仪器

显微图像式粒度分布仪（或显微颗粒图像处理仪）；

仪器参数：测试范围 1-1000um；

物镜放大倍率：4×、10×、40×、100×。

A.3 操作步骤

A.3.1 打开计算机，点击图标启动仪器软件；

A.3.2 将树脂均匀分散在干净的载玻片上，再把载玻片固定在显微镜载物台上，打开显微镜电源，选好适当倍率的物镜，调整焦距和光的强度，使拍摄的图像色度适中，树脂外缘清晰，进行图像采集；

A.3.3 使用计算机软件进行图像处理（如图像二值化，空白扣除，粘连颗粒分离等）；

A.3.4 使用计算机软件对处理后图像进行数据分析，得到树脂粒度分析结果。

附录 B1 (规范性)

Wang 树脂取代度的测定

B.1 范围

本标准适用于多肽固相合成用 Wang 树脂取代度的测定。

B.2 原理

用过量 Fmoc-Leu-OH 与树脂反应，得到负载 Fmoc-Leu 的 Wang 树脂。用哌啶溶液处理该树脂，Fmoc 基团脱落并与哌啶形成 Fmoc-哌啶络合物。该络合物在 300nm 附近有最大吸收峰。通过紫外吸收强度测定 Fmoc 基团的含量，进而计算出树脂取代度（羟基含量）。

B.3 仪器

B.3.1 圆底烧瓶：100ml；

B.3.2 移液管：1ml、5ml；

B.3.3 容量瓶：25ml、50ml；

B.3.4 分析天平：精度 0.1mg；

B.3.5 分析天平：精度 0.01g；

B.3.6 样品管：10ml；

B.3.7 紫外可见分光光度计；

B.3.8 恒温振荡器（摇床）：温度 0-50°C，转速 0-300rpm。

B.4 试剂

B.4.1 Fmoc-Leu-OH：纯度≥99.0%；

B.4.2 HOBt：纯度≥99.0%；

B.4.3 DIC：纯度≥99.0%；

B.4.4 DMAP：纯度≥99.0%；

B.4.5 DCM：分析纯；

B.4.6 甲醇：分析纯；

B.4.7 哌啶：分析纯；

B.4.8 DMF：分析纯

B.5 操作步骤：

B.5.1 耦合 Fmoc-Leu-OH

称取 Wang 树脂 1.0 g（精确到 0.01g）至反应瓶中，依次加入 Fmoc-Leu-OH（3eq.相对于树脂摩尔数，下同），HOBt（3eq.），干燥 DMF 10ml 搅匀，搅拌下加入 DIC（3eq.），最后加入 DMAP（0.2eq.），于摇床上 25-30°C 反应 15 小时（转速 150-180 转/分钟）。反应完毕的树脂转移到砂芯漏斗中，依次用 DMF（约 25ml/次，下同）、二氯甲烷、甲醇，各洗 3 次，滤去溶剂，室温晾至树脂松散后，60°C 常压干燥 2 小时，备用。同时耦合平行样。注：所有参与反应的试剂（除 DIC）、溶剂、反应瓶等用前必须干燥。

B.5.2 紫外法检测（以下所有的溶液样品管都要放在同一个摇床上，转速 150-180 转/分钟）

B.5.2.1 空白溶液：精密量取 5ml 的 20%哌啶/二甲基甲酰胺溶液放入 10ml 的样品管中，在摇床上摇 30 分钟，温度 25-30°C，将反应液转移到 50ml 容量瓶中，用甲醇洗涤样品管，并将洗涤液合并入容量瓶中，再用甲醇稀释到刻度，摇匀。再精密量取 1ml 于 25ml 容量瓶中，用甲醇稀释到刻度，摇匀，备用。

B.5.2.2 标样溶液：称取 Fmoc-Leu-OH 20-30mg（Ws）（精确到 0.1mg）到 10ml 的样品管中，再精密量取 5ml 的 20%哌啶/二甲基甲酰胺溶液加入，在摇床上摇 30 分钟，温度 25-30°C，将反应液转移到 50ml 容量瓶中，用甲醇洗涤样品管，并将洗涤液合并入容量瓶中，再用甲醇稀释到刻度，摇匀。再精密量取 1ml 于 25ml 容量瓶中，用甲醇稀释到刻度，摇匀。用 B.5.2.1 做空白，测 300nm 处吸光度（As）。

B.5.2.3 样品溶液：称取 B.5.1 树脂 100mg（Wi）（精确到 0.1mg）放入 10ml 的样品管中，再精密量取 5ml 的 20%哌啶/二甲基甲酰胺溶液加入，在摇床上摇 30 分钟，温度 25-30°C。将反应液转移到 50ml 容量瓶中，用甲醇洗涤样品管，并将洗涤液合并入容量瓶中，再用甲醇稀释至刻度，摇匀。精密量取以上溶液 1ml 于 25ml 容量瓶中，用甲醇稀释到刻度，摇匀。用 B.5.2.1 做空白，测 300nm 处测吸光度（Ai）。

B.6 结果计算

B.6.1 紫外法计算 B.5.1 树脂（Fmoc-Leu-Wang 树脂）的取代度

$$\text{SubA (mmol/g)} = \frac{A_i \times W_s \times 1000}{A_s \times W_i \times 353.4}$$

式中：Ai——样品吸光度

As——标样吸光度

Ws——标样质量，g

Wi——样品质量，g

B.6.2 紫外法计算 Wang 树脂的取代度

$$\text{Sub (mmol/g)} = \frac{\text{SubA} \times 1000}{1000 - \text{SubA} \times G}$$

G——335.4(为 Fmoc-Leu-OH 分子量 353.4 减去 H₂O 分子量 18)

两次平行测定结果的差值绝对值不得大于 0.05mmol/g，取两次平行测定的算术平均值为分析结果。

附录 B2 (规范性)

2-氯三苯基甲基氯树脂取代度的测定

B.1 范围

本标准适用于多肽固相合成用 2-氯三苯基甲基氯树脂取代度的测定。

B.2 原理

用过量 Fmoc-Leu-OH 与树脂反应，得到负载 Fmoc-Leu 的 2-氯三苯基甲基氯树脂。用哌啶溶液处理该树脂，Fmoc 基团脱落并与哌啶形成 Fmo-哌啶络合物。该络合物在 300nm 附近有最大吸收峰。通过紫外吸收强度测定 Fmoc 基团的含量，进而计算出树脂取代度（活泼氯含量）。

B.3 仪器

B.3.1 圆底烧瓶：100ml；

B.3.2 移液管：1ml、5ml、10ml；

B.3.3 容量瓶：25ml、50ml；

B.3.4 分析天平：精度 0.1mg；

B.3.5 分析天平：精度 0.01g；

B.3.6 样品管：10ml；

B.3.7 紫外可见分光光度计；

B.3.8 台式恒温振荡器（摇床）：温度 0-50°C，转速 0-300rpm。

B.4 试剂

B.4.1 Fmoc-Leu-OH：纯度 \geq 99.0%；

B.4.2 DIPEA（二异丙基乙胺）：纯度 \geq 99.0%；

B.4.3 DCM：分析纯；

B.4.4 甲醇：分析纯；

B.4.5 哌啶：分析纯；

B.4.6 DMF：分析纯；

B.4.7 无水乙醇：分析纯。

B.5 操作步骤：

B.5.1 耦合反应操作

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/428135107137007010>