中 国 科 学
1989 年 5 月　　B 辑　　第 5 期

新蛙皮活性肽-绿臭蛙激肽的合成及其活性检定*

陆一安　彭金林　朱应麒
（中国科学院上海生物工程实验基地）
吴时样　唐易全　田盛海　邹 冈
（中国科学院上海药物研究所）

摘　要

用液相片断缩合法首次合成了由中国绿臭蛙（*Rana margaratae*）的蛙皮中分离的速激肽类新活性肽-绿臭蛙激肽（Ranamargarin）：Asp-Asp-Ala-Ser-Asp-Arg-Ala-Lys-Lys-Phe-Tyr-Gly-Leu-Met-NH_2. 合成的十四肽酰胺在 RP-HPLC 上显示与天然肽相同的保留时间，与天然肽合并后为单一峰，从而进一步肯定了此新活性肽的结构. 根据不同生物标本检定的结果，提示此肽对 SP-P 型速激肽受体有较高的选择性.

关键词：新蛙皮活性肽，绿臭蛙激肽，合成，SP-P 型速激肽受体

蛙皮中含有丰富的生物胺及活性多肽. 早在 50 年代初，意大利学者 Erspamer[1] 就开始对多种蛙皮进行研究. 至今世界上已从 500 多种蛙皮中分离出 40 多个活性肽. 由于皮肽、脑肽和肠肽三者在结构和功能上存在着对应关系，从发现新的蛙皮活性肽寻找相应的脑肽、肠肽已成为寻找哺乳动物新神经肽的一个重要途径.

我国在蛙皮肽方面的研究工作自 80 年代开始. 1985 年由唐易全等[2]从我国绿臭蛙皮中分离出了数种新活性蛙皮肽，其中一种的化学结构经顺序分析定为 (I)，见表 1，命名为绿臭蛙激肽(Ranamargarin)，该肽的 C 末端 6 个氨基酸与已知的蛙皮速激肽 Physalaemin (II) 完全相同，C 末端四肽又与 Substance P (III) 完全相同，因此该十四肽可归属于速激肽类 (Tachykinins). 此肽结构上又有自己的特点，它不含 Pro 残基，N 末端也不经 Pyr 封闭. 在 N 端的 1，2 和 5 位有 3 个 Asp 残基. 为确证此活性肽的结构，必须用化学合成方法进行验证，同时提供足够的样品以作进一步的药理研究.

本文 1988 年 2 月 4 日收到，1988 年 6 月 20 日收到修改稿.
* 国家自然科学基金资助项目.

本文所用简称如下：Z——苄氧羰基，Boc——叔丁氧羰基，Bzl——苄基，OBzl——苄酯，Mts——2，4，6-三甲基苯磺酰基，TFA——三氟乙酸，TFMSA——三氟甲磺酸，DCC——N，N′-二环己基碳二亚胺，HOBt——N-羟基苯骈三氮唑，DMF——二甲基甲酰胺，DMSO——二甲亚砜，THF——四氢呋喃，TEA——三乙胺，Troc——三氯乙氧羰基.

表 1 速激肽家族

(I)	Asp-Asp-Ala-Ser-Asp-Arg-Ala-Lys-Lys-Phe-Tyr-Gly-Leu-Met-NH_2	Ranamargarin
(II)	Pyr-Ala-Asp-Pro-Asn-Lys-Phe-Tyr-Gly-Leu-Met-NH_2	Physalaemin
(III)	Asp-Val-Pro-Lys-Ser-Asp-Gln-Phe-Val-Gly-Leu-Met-NH_2	Kassinin
(IV)	Pyr-Pro-Ser-Lys-Asp-Ala-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH_2	Eledoisin
(V)	Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH_2	Substance P

我们用液相法合成了 Ranamargarin. 片断缩合主要用叠氮法,以尽量减少消旋反应. N^{α} 氨基用 Boc 保护, 氨基酸侧链保护使用 Ser(Bzl), Arg(Mts), Lys(Z), Asp(OBzl), Tyr (Bzl) 等. 最后使用 1mol/L TFMSA-Thioanisole/TFA[3] 将全部保护脱除. 合成含有 Asp (OBzl) 残基的酰肼片段时,使用 NH_2NH-Troc[4] 试剂制成保护酰肼, 再用 Zn/HOAc[5] 脱除 Troc 基而得到相应酰肼. 在用 TFA 脱除 N^{α}-Boc 基时加入含有 2% 巯基乙醇的苯甲醚作为消除剂,以防止 Met 残基硫醚键的烷基化及氧化等副反应.

整个多肽采用 5 个片段,用叠氮法将其依次缩合,合成路线见图 1. 曾试图借助 Troc 基保护制备 Boc-Asp(OBzl)-Arg(Mts)-Ala-$NHNH_2$, 但所得产品的纯化遇到困难, 因而在片段D缩合后,第五位的 Asp 残基由 DCC/HOBt 方法单独引入.

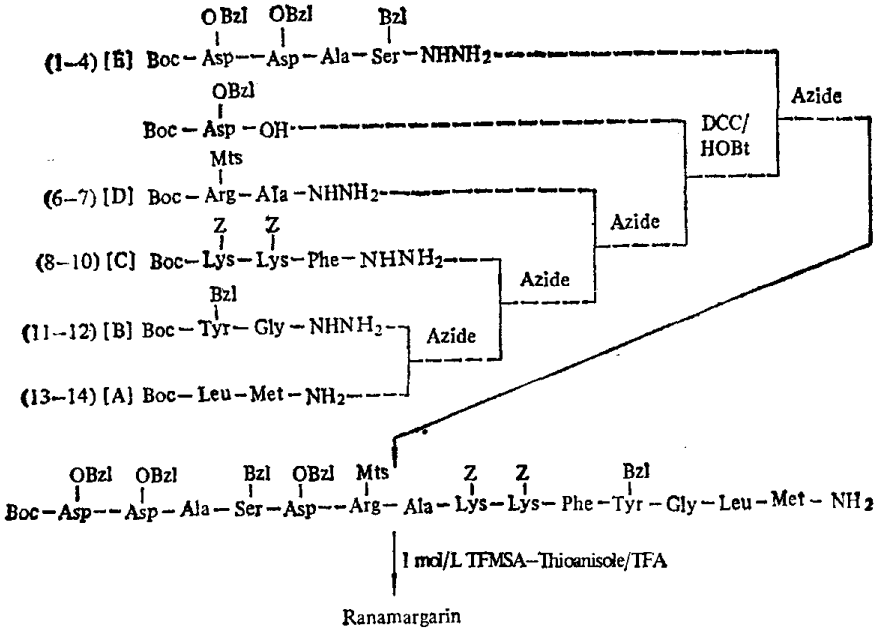


图 1 Ranamargarin 的合成路线

各片段的合成方法如下: 片段 [A] Boc-Leu-Met-NH_2 按文献 [6] 制备. 片段 [B] 由 Boc-Tyr(Bzl)-Gly-OEt[7] 肼解制得. 片段 [C] 由 Boc-Lys(Z)-ONp 与经 TFA 处理后的二肽 Boc-Lys(Z)-Phe-OMe 缩合,再肼解而成. 片段[D] 用混合酸酐法将 Boc-Arg(Mts)-OH 与 H-Ala-OMe 缩合后再肼解而成. 片段 [E]: Boc-Ala-OH 与 H-Ser(Bzl)-NHNH-Troc 用 DCC/HOBt 法缩合后再用 DCC/HOBt 法将C端的两个 Boc-Asp(OBzl)-OH 缩合后,用 Zn/HOAc 在 DMF 溶剂中脱除 Troc 基而制成. 由上述方法制备的各片段依次用叠氮法缩合而得保护十四肽酰胺. 缩合的中间保护肽段以及保护十四肽酰胺的元素分析及氨基酸分析均符合计算值,薄层层析显示均一斑点.

最后脱保护及纯化步骤如下:以 1mol/L TFMSA-Thioanisole/TFA 在 m-Cresol 和 2%

的巯基乙醇存在下处理，脱除全部保护基，经弱阴离子交换树脂 (703) 处理后，用稀 NH_4OH 处理以逆转在 Ser 残基上可能发生的N→O移位[3]。然后以 0.5*N* HOAc 作洗脱液经 Sephadex G-25 凝胶过滤，所得粗产品用半制备 RP-HPLC 以 μ-Bondapak C_{18} 柱进行纯化。纯化后的肽与天然肽在 HPLC 上显示相同的保留时间，并且与天然肽合并后在 HPLC 上出现单一峰(图 2)。氨基酸组成分析与理论值相符。红外光谱测定表明 Asp-Ala 肽键上无琥珀酰亚胺生成。薄层层析显示均一斑点。合成肽在豚鼠回肠纵行肌标本上引起收缩的强度与

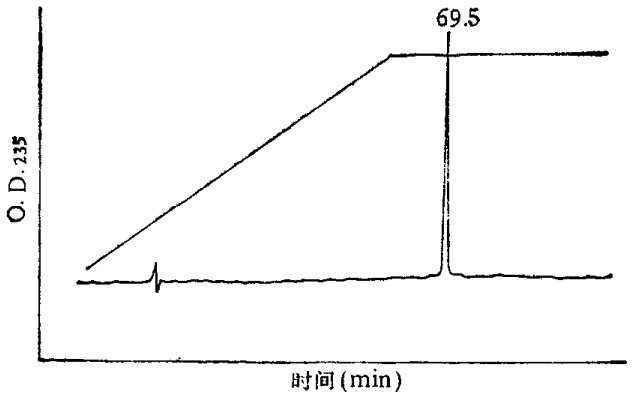


图2　合成肽与天然肽合并（各 5nmol）后的 HPLC 图谱

(柱——μ-Bondapak C_{18} 10μm (3.9×300mm)，移动相——乙腈的 0.1% TFA 水溶液，直线梯度 0—27% (60min)，紫外检测——λ235nm，流速——0.8ml/min)

天然肽相同 (图 3)。这种收缩作用也被 P 物质拮抗剂 A-58 [D-Arg[1], D-Phe[5], D-Trp[7,9], Leu[11]]SP[8] 所拮抗。因此证实了 Ranamargarin 的化学结构。此外又在豚鼠回肠纵行肌条、仓鼠膀胱条及胃条上与 P 物质、Physalaemin, Kassinin 及 Eledoisin 进行比较，观察到 Ranamargarin，P 物质与 Physalaemin 引起的豚鼠回肠纵行肌收缩的强度相当，但显著强于 Kassinin 和 Eledoisin，而在仓鼠胃条及膀胱条上正好相反，说明 Ranamargarin 对 SP-P 型速

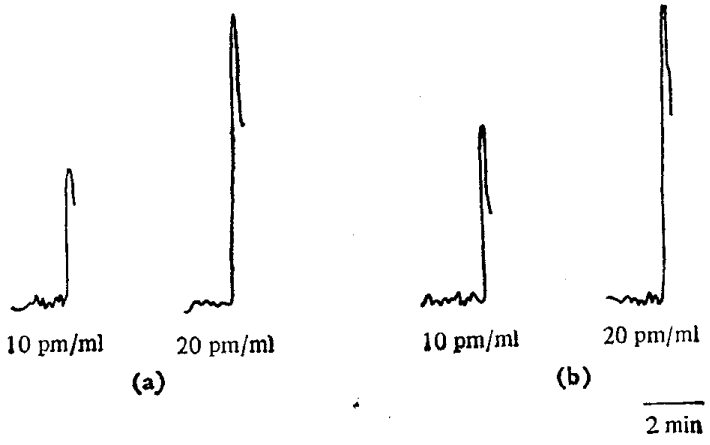


图 3　豚鼠回肠纵行肌标本上引起收缩的强度与天然肽对照

(长 6cm，浸有在通有 95% 氧 + 5% 二氧化碳的 Krebs 氏溶液中，温度 37℃. 肌肉一端固定，另一端与张力换能器相联，用多导仪记录.
(a) 天然的 Ranamargarin，　(b) 人工合成的 Ranamargarin)

激肽受体选择性较高[9]. 详细药理实验结果将由另文发表.

一、实验部分

熔点采用毛细管法进行测定,温度计未经校正. 簿层层析在硅胶板 (Kieselgel G Merck) 上进行. R_f 值分别采用下列溶剂系统 (V/V): R_{f1} 氯仿:甲醇:水= 89:10:1, R_{f2} 氯仿:甲醇:水= 45:10:1, R_{f3} 正丁醇:醋酸:水= 4:1:2, R_{f4} 正丁醇:醋酸:吡啶:水= 30:6:20:24, R_{f5} 氯仿:甲醇:水= 100:37.5:6.5, R_{f6} 正丁醇:醋酸:吡啶:水= 4:1:1:2.

HPLC Waters M-510 泵, M-721 Programmable system controller, M-481 可变紫外检测器, M-730记录仪.

氨基酸组成分析 样品以 6*N* HCl (含 0.1% 苯酚) 在 110℃ 水解 24h, 在 LKB 4000 型氨基酸分析仪上进行.

根据 Honzl 和 Rudinger 方法[10], 用亚硝酸异戊酯将酰肼转变成叠氮物, 叠氮反应在 0—4℃ 进行,反应 72h. 混合酸酐法根据 Vaughan 和 Osato[11] 使用氯甲酸异丁酯在冰浴中反应 2h. DCC/HOBt 及活化酯法缩合反应都在室温进行.

N^{α}-Boc 脱保护 使用 TFA/苯甲醚(含 2% 巯基乙醇)(每克保护肽用大约 3ml TFA, 1ml 苯甲醚)在 0℃ 处理 60min.

除特别说明外,一般用下列方法进行纯化: 方法 1: 对于能溶于乙酸乙酯的保护肽, 用 5% 柠檬酸溶液、5% 碳酸氢钠溶液及饱和氯化钠溶液依次洗 2—3 次后,无水硫酸镁干燥,过滤,除去溶剂后再用适当溶剂重结晶. 方法 2: 对在乙酸乙酯中溶解度小的保护肽,析出的固体用 5% 柠檬酸溶液、5% 碳酸氢钠溶液和水依次洗后干燥,再用适当溶剂重结晶或重沉淀纯化.

Boc-Tyr(Bzl)-Gly-$NHNH_2$ Boc-Tyr(Bzl)-Gly-OEt (3.07g,6.4mmol) 溶于甲醇 (70ml) 中, 加入水合肼 (5ml, 含量在 85% 以上), 室温搅拌 16h, 蒸去部分溶剂后加入蒸馏水,析出的白色固体水洗后干燥, 得 2.85g (产率 98%), 熔点: 160—161℃, $[\alpha]_D^{24}$ — 11.2 (C0.37, DMF), R_{f2} 0.72, R_{f3} 0.93, 元素分析: $C_{23}H_{30}N_4O_5$, 计算值: C 62.42, H 6.83, N 12.66. 实验值 C 62.12, H 6.86, N 12.73.

Boc-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Met-NH_2 Boc-Leu-Met-NH_2 (1.8g, 5mmol) 用 TFA 处理后溶于 DMF (10ml), 等当量的中和后加入叠氮溶液 [由 Boc-Tyr (Bzl)-Gly-$NHNH_2$ 2.4g, 5.5mmol 制备],在 0—4℃ 反应 72h 后处理,按方法 B 纯化 DMF/乙醚重沉淀,得产物 1.8g (52.9%), 熔点 168—170℃, $[\alpha]_D^{19}$ — 30.7 (C0.83, DMF), R_{f1} 0.39, R_{f2} 0.64. 元素分析: $C_{34}H_{49}N_5SO_7 \cdot H_2O$, 计算值: C 59.14, H 7.45, N 10.15, 实验值: C59.07, H 7.15, N 9.81.

Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-OMe Boc-Lys(Z)-Phe-OMe (4.33g, 8mmol) TFA 处理后溶于 DMF (20ml), 加入等当量 TEA 和 Boc-Lys(Z)-ONp (4.13g) 在室温反应 24h, 浓缩后按方法 A 纯化. 得产物 6g (产率 93.3%). 熔点 113—115℃ R_{f1} 0.80 R_{f2} 0.86. $[\alpha]_D^{17}$ — 12.9° (C 0.3, DMF). 元素分析: $C_{43}H_{57}N_5O_{10}$, 计算值: C 64.24, H 7.15, N 8.71, 实验值: C 64.07, H 7.29, N 8.60.

Boc-Lys(Z)-Lys (Z)-Phe-$NHNH_2$ Boc-Lys (Z)-Lys (Z)-Phe-OMe (3g, 1.24

mmol）溶于甲醇（10ml），加入水合肼（2ml），室温反应过夜，析出固体用二氧六环/甲醇重结晶，得产物 2.8g（93.3%），熔点 187—189℃，$[\alpha]_D^{27}$ — 17.7°（C 0.96，DMF），R_{f_1} 0.52，R_{f_2} 0.65，元素分析：$C_{42}H_{59}N_7O_9 \cdot 1/2H_2O$，计算值：C 62.05，H 7.44，N 12.06，实验值：C 61.69，H 7.06，N 12.03.

Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Met-NH_2　将 TFA 处理过的 Boc-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Met-NH_2（1.8g）溶于 DMF（5ml）中，加入等当量的 TEA 和叠氮溶液[由 2.37g，2.95mmol Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-$NHNH_2$ 在 DMF（17ml）和 DMSO（7ml）混和溶剂中制备]. 在冰浴中反应 3 天后浓缩，然后按方法 B 纯化. 得产物 3.36g（93.3%）. 熔点 208—210℃，$[\alpha]_D^{18}$ — 22°（C 0.54，DMF），R_{f_1} 0.54，R_{f_2} 0.72. 氨基酸组成分析：Gly1.07，Leu 1.30，Tyr 0.90，Phe 0.96，Lys 2.02，Met 0.78. 元素分析：$C_{71}H_{94}N_{10}O_{14}S \cdot H_2O$，计算值：C 62.61，H 7.10，N 10.29；实验值：C 62.68，H 7.10，N 9.98.

Boc-Arg(Mts)-Ala-$NHNH_2$　由 Boc-Arg(Mts)-OH[从2.29g，5mmol 的 Boc-Arg(Mts)-OH·CHA 制备] 和等当量氯甲酸异丁酯制备的混合酸酐加入到冰冷的 H-Ala-OMe.HCl（0.7g）和 N-甲基吗啡啉（0.56ml）的混合溶液中，缩合后按方法 A 纯化，得 2g 二肽酯. 然后常规肼解，所得酰肼用乙酸乙酯-石油醚重结晶后重 1.17g（58.5%）. 熔点 90—93℃. R_{f_1} 0.38，R_{f_2} 0.66. $[\alpha]_D^{22}$ + 1.5（C 0.98，DMF），元素分析：$C_{23}H_{39}N_7O_6S$ $1/2H_2O$，计算值：C 50.16，H 7.32，N 17.80；实验值：C 50.16，H 7.36，N 18.15.

Boc-Arg(Mts)-Ala-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Met-NH_2　将 1.35g Boc-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Met-NH_2 用 TFA 处理后溶于 DMF（10ml），加入由 Boc-Arg(Mts)-Ala-$NHNH_2$（1.35g）所制备的叠氮溶液，在冰浴中缩合 3 天后浓缩，然后按方法 B 纯化，用 DMF-乙醚重沉淀得保护九肽 1.2 g（68.1%），熔点：190—192℃，$[\alpha]_D^{17}$ — 16.7（C 1，DMF）R_{f_1} 0.21，R_{f_2} 0.44. 元素分析：$C_{89}H_{121}N_{15}O_{18}S_2 \cdot H_2O$，计算值：C 60.35，H6.99，N 11.86，实验值：C 60.15，H 6.85，N 11.85. 氨基酸组成分析：Gly 1.00，Ala 0.97，Leu 0.88，Tyr 0.88，Phe 1.52，Met 0.99，Lys 2.33，Arg 0.97.

Boc-Asp(OBzl)-Arg(Mts)-Ala-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Met-NH_2　将 TFA 处理后的 Boc-Arg(Mts)-Ala-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Met-NH_2（1.24g，0.7mmol）用碱处理后所得固体溶于 DMF（15ml），Boc-Asp(OBzl)-OH（1.13g，3.5mmol）和 HOBt（0.47g，3.5mmol）溶于 DMF（10ml），冰冷后加入 DCC（0.72g，3.5mmol），在冰浴中反应 2h 后滤去 DCU，滤液加入到上述 DMF 溶液中，室温反应 2h 后浓缩，残留物按方法 B 纯化. 用 DMF-乙醚重沉淀后得产物 1.06g（72.9%）. 熔点：187—189℃，$[\alpha]_D^{18}$ — 20.3（C 0.75，DMF）. R_{f_1} 0.18，R_{f_2} 0.32，氨基酸组成分析：Asp 1.12，Gly 0.85，Ala 0.87，Leu 0.85，Tyr 0.85，Phe 1.00，Lys 2.00，Arg 0.89，Met 0.88，元素分析：$C_{100}H_{132}N_{16}O_{21}S_2$，计算值：C 61.33，H 6.79，N 11.44；实验值：C 61.44，H 6.87，N 10.83.

Boc-Ala-Ser(Bzl)-NHNH-Troc　Boc-Ser(Bzl)-NHNH-Troc（4.85g，20mmol）用 TFA 处理后溶于 DMF（20ml），与 Boc-Ala-OH（1.89g，10mmol）用 DCC/HOBt 法常规缩合，然后按方法 A 纯化，得产率 5.87g（90%）. 熔点：54℃，$[\alpha]_D^{24}$ — 18.1（C 0.44，CH_3OH）. R_{f_3} 0.84. 元素分析：$C_{21}H_{29}N_4O_7Cl_3$，计算值：C 45.37，H 5.27，N 10.08；实验

值，C 45.85，H 5.69，N 10.45.

Boc-Asp (OBzl)-Ala-Ser (Bzl)-NHNH-Troc Boc-Ala-Ser (Bzl)-NHNH-Troc (5.87g，10.56mmol) 用 TFA 处理后溶于 DMF 中 (25ml)，与 Boc-Asp (OBzl)-OH (3.41g，10.56mmol) 用 DCC/HOBt 法常规缩合，然后按方法A纯化. 乙酸乙酯/石油醚重结晶. 得产物5.4g (66.5%). 熔点: 140—142℃，$[\alpha]_D^{20}$ — 21.2 (C 0.59，CH_3OH). R_{f2} 0.85，R_{f3} 0.86. 元素分析: $C_{32}H_{40}N_5O_{10}Cl_3 \cdot 1/2H_2O$，计算值: C 53.44，H 5.32，N 8.69; 实验值: C 53.20，H 5.29，N 8.48.

Boc-Asp (OBzl)-Asp (OBzl)-Ala-Ser (Bzl)-NHNH-Troc 将 TFA 处理过的 Boc-Asp(OBzl)-Ala-Ser(Bzl)-NHNH-Troc (2.7g，3.5mmol) 溶于 DMF (20ml)，用 DCC/HOBt 方法与 Boc-Asp(OBzl)-OH (1.16g，3.6mmol) 常规缩合，按方法A纯化，乙醇-水重结晶，得产物1.9g (57.5%)，熔点: 118—120℃，$[\alpha]_D^{15}$ — 9.7 (C 0.75，乙酸乙酯). R_{f2} 0.82，元素分析: $C_{43}H_{51}N_6O_{13}Cl_3$，计算值: C 53.44，H 5.32，N 8.69; 实验值: C 53.20，H 5.29，N 8.48.

Boc-Asp(OBzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ser(Bzl)-NHNH$_2$ Boc-Asp(OBzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ser(Bzl)-NHNH-Troc (1.57g，1.62mmol) 溶于 DMF-醋酸 (3—4ml)，加入 Zn 粉 (1.21g，19.5mmol)，冰浴中反应1h后，室温反应5h. 过滤，滤液减压浓缩，残留物用5% EDTA 溶液处理后，所得固体分别用5%$NaHCO_3$ 和水洗，用乙酸乙酯-石油醚重结晶，得产物 0.97g (75.8%). 熔点: 108—110℃，$[\alpha]_D^{15}$ — 13.5 (C 0.84，DMF). R_{f1} 0.32，R_{f2} 0.49. 氨基酸组成分析: Asp 1.93，Ala 0.92，Ser 1.00. 元素分析: $C_{40}H_{50}N_6O_{11} \cdot H_2O$，计算值: C 59.39，H 6.47，N 10.39; 实验值: C 59.00，H 6.18，N 10.25.

Boc-Asp(OBzl)-Asp(OBzl)-Ala-Ser(Bzl)-Asp(OBzl)-Arg(Mts)-Ala-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Met-NH$_2$ 将 TFA 处理过的 Boc-Asp(OBzl)-Arg(Mts)-Ala-Lys(Z)-Lys(Z)-Phe-Tyr(Bzl)-Gly-Leu-Met-NH_2 (1.06g，0.54mmol) 溶于 DMF(5ml)，加入制备好的叠氮溶液[由 0.66g，0.81mmol 的 Boc-Asp(OBzl)-Asp (OBzl)-Ala-Ser(Bzl)-$NHNH_2$ 在 DMF (5ml) 中制备]. 在冰浴中反应3天后，按上述方法处理，方法B纯化. DMF-乙酸乙酯重沉淀 得产物 760mg (51%). 熔点: 218—220℃，$[\alpha]_D^{23}$ — 16.1 (C 0.38，DMF). R_{f2} 0.57，R_{f6} 0.71. 氨基酸组成分析: Asp 2.97，Gly 1.00，Ala 1.60，Leu 0.90，Tyr 0.89，Ser 0.71 Phe 1.15，Lys 2.26，Arg 0.99，Met 0.83. 元素分析: $C_{135}H_{170}N_{20}O_{30}S_2 \cdot 2H_2O$，计算值: C 61.15，H 6.61，N 10.55，实验值: C 60.93，H 6.50，N 10.22.

H-Asp-Asp-Ala-Ser-Asp-Arg-Ala-Lys-Lys-Phe-Tyr-Gly-Leu-Met-NH$_2$

上述制备的保护十四肽酰胺 (200mg，0.075mmol) 用16.85 ml 1mol/L TFMSA/Thioanisole/TFA 在 m-Cresol 和2% 巯基乙醇的存在下冰浴中处理 90min，加入无水乙醚，析出的白色沉淀过滤后干燥，然后溶于 H_2O 中 (15ml)，加入 4g 703 树脂，室温搅拌 30min 后过滤，滤液在冰浴冷却下滴加稀 NH_4OH 至 pH 8，搅拌 30min 后冻干，得 90mg 固体. 将其溶于 1.5ml 0.5*N* HOAc 中，上 Sephadex G-25 柱 (2.5×80cm) 以 0.5% HOAc 为洗脱液，紫外检测 (λ = 235nm). 收集主峰冻干后得 79g. 将 25mg 样品用 RP-HPLC 在半制备柱上 (10μm，μ-Bondapak C_{18}，Waters; 7.8 × 300mm) 进行纯化，移动相使用乙腈 (溶于 0.1% TFA 水溶液) 线性梯度 0—27% (60min) (保留时间 69.5min)，得产物 11.2mg. $[\alpha]_D^{17}$ — 30.95

(C 0.42, H_2O) R_f 0.70, R_{f5} 0.35，氨基酸组成分析：Asp 2.88, Gly 1.20, Ala 1.91, Leu 1.06, Tyr 0.88, Ser 0.81, Phe 1.00, Lys 2.15, Arg 1.02, Met 0.72,

本工作由徐家华、张裔芝同志承担元素分析，方佩芬同志担任氨基酸分析，胡占迪、糜竞芳同志承担旋光测定，谨此一并致谢。

参　考　文　献

[1] Erspamer, V. et al., *Pure Appl. Chem.*, **35**(1973), 463—494.
[2] 唐易全等，中国科学B辑，1988，9：967—974.
[3] Yajima, H. & Fujii, N., in *The peptides* (Ets. Gross, E. & Meienhofer, J.), Academic Press, New York. Vol **5**, 1983, 65—109.
[4] Yajima H. et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **19**(1971), 420—423.
[5] Woodward, R. B. et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, **88**(1966), 852—853.
[6] Lübke, K. et al., *Ann. Chem.*, **679**(1964), 195—206.
[7] Matseuda, R. et al., *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **46**(1973), 3240—3247.
[8] 陆一安等，生物化学杂志，**2**(1986)，23—28.
[9] Iversen, L. L., in *Tachykinin Antagonists* (Eds. Håkanson, H. & Sundler, F.), Elsevier Sci. Publ. B. V. Amsterdam, 1985, 291—304.
[10] Honzl, J. & Rudinger, J., *Coll. Czech Chem. Commun.*, **26**(1961), 2333—2344.
[11] Vaughan, J. R. & Osato, R. L., *J. Amer. Chem. Soc.*, **74**(1952), 676—678.