

胞嘧啶核苷二磷酸胆碱的制备

上海实验生物研究所核酸研究组
上海药用辅料厂

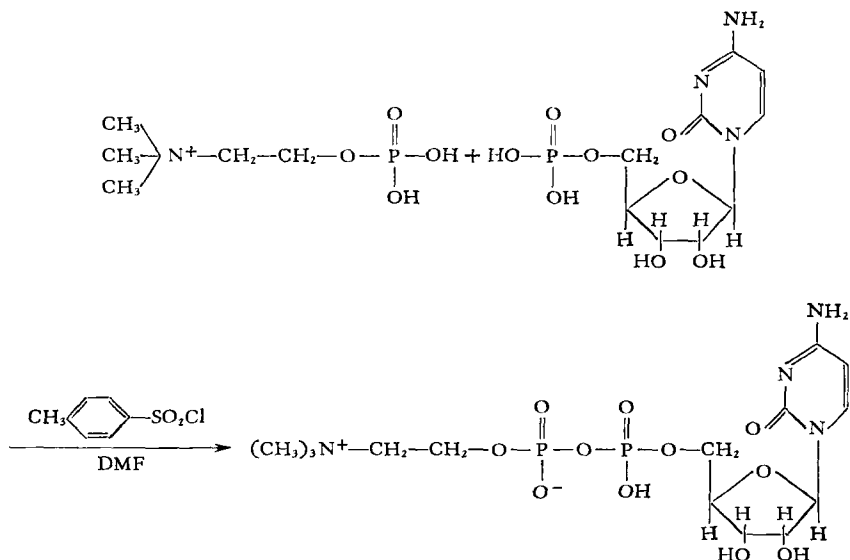
胞嘧啶核苷二磷酸胆碱是体内磷脂代谢所必需的辅酶,对脑外伤、脑震荡、神经官能症、脂肪肝等疾病有较好的疗效。本文介绍的有机合成制备工艺简便可靠,成本低,得率也较好,对产品的鉴定要求严格;已在工业生产中应用。
——编者

磷脂是生物体的重要组成成份,在人体的脑、肝、心脏等器官中含有大量磷脂,它的代谢和这些器官的正常功能密切相关。自从1956年 Kennedy 发现胞嘧啶核苷二磷酸胆碱(以下简称为胞二磷胆碱),并阐明它在磷脂代谢中作为合成磷脂的中间体之后,胞二磷胆碱在磷脂代谢中的重要作用受到人们的重视。现在已有各种方法制备这一中间物。近年来有不少报道,利用胞二磷胆碱来治疗脑外伤、脑震荡后遗症及其所引起的意识障碍,神经官能症和脂肪肝等疾病,取得了

良好的效果。我们遵照毛主席关于“独立自主、自力更生”的伟大教导,用有机合成方法试制成了这一生化药物,为工业生产胞二磷胆碱提供了可行的工艺。

一、原理

用5'-胞嘧啶核苷酸(5'-CMP)和磷酸胆碱作为反应底物,用对-甲苯磺酰氯作为缩合剂,在N-二甲基甲酰胺(DMF)存在下进行缩合制备胞二磷胆碱。其反应式如下:

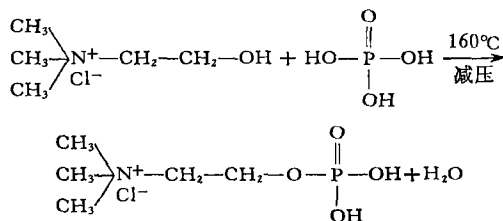


二、材料和方法

本工作所用5'-胞嘧啶核苷酸系上海药用辅料厂产品;磷酸胆碱由我们自行制备。

1. 磷酸胆碱钙盐的制备

用磷酸和氯化胆碱作原料,在160°C和减压条件下脱水缩合。反应方式如下:



(1) 操作步骤 称取干燥的氯化胆碱 2.36 克 (0.017 毫克分子) 置圆底烧瓶中, 加入 3.59 毫升 (0.062 毫克分子) 的磷酸, 使氯化胆碱全部溶解, 将烧瓶加热至 100℃ 抽气减压。一小时后, 待瓶中气泡基本消失, 溶液成透明粘稠状, 升温至 160℃, 继续减压反应 12 小时; 然后冷却, 加 40 毫升蒸馏水溶解, 再加 1.18 克氯化钙, 待全部溶解后, 用饱和的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 溶液调至微碱性 (用酚酞作指示剂); 此时有大量磷酸钙白色絮状沉淀出现, 离心弃去沉淀取上清液, 加热至沸点, 浓缩至小体积, 冷至室温, 加入等量无水酒精, 析出白色鳞状沉淀, 再分别用 60%、80% 酒精洗三次, 于真空干燥器中干燥, 即得磷酸胆碱钙盐。每投料氯化胆碱 7.2 克, 可得磷酸胆碱 8 克左右。

上述方法制备的磷酸胆碱钙盐, 用纸层析、纸电泳以及克分子比值测定, 进行分析鉴定。

(2) 纸层析和纸电泳 取制备的磷酸胆碱钙盐溶解于水中作为样品, 同时用氯化胆碱作对照。滤纸用华特曼 1 号, 电泳用 0.3M 醋酸-吡啶溶液 (先配好 0.3M 醋酸溶液, 然后用吡啶调至 pH 4) 作缓冲液, 电压 400 伏, 电泳 2.5 小时。层析溶剂用正丙醇: 蒸馏水: 三氯醋酸: 18N 氨水 (75:25:5:0.3, v/v/w/v) 上行法。电泳、层析完毕后, 滤纸用冷风吹干, 喷卓氏胆碱显色试剂 [Dragendroff reagent, 1.7 克硝酸铋溶于 100 毫升 20% 醋酸中: 40 克碘化钾溶于 100 毫升水中: 蒸馏水, 依体积 4:1:20 混合即成], 氯化胆碱和样品都显桔红色, 表明样品含有胆碱。另外喷显磷试剂 [Hanes and Isherwood reagent, 由 5 毫升 60% (w/v) 过氯酸溶液、10 毫升 1N HCl 和 25 毫升 4% (w/v) 钼酸铵溶液混合配成], 样品显蓝色, 而氯化胆碱不显色, 表明样品含有胆碱和磷。纸层析磷酸胆碱的比移值 (R_f)¹⁾ 为 0.26。电泳磷酸胆碱迁移率²⁾ 为 0.37 (以氯化胆碱为 1)。

(3) 克分子比值测定 产品经酸水解 (用“25%”硝酸在沸点之下水解 5.5 小时) 可释放出胆碱和磷酸两个组份, 分别用测无机磷方法和利英纳克 (Reineckate) 测胆碱方法进行测定, 胆碱与磷酸两个组份克分子比值应为 1:1。实际测定结果为胆碱: 磷酸 = 1:1.15。

2. 胆碱的测定——利英纳克方法

(1) 试剂的配制 “25%” 硝酸——取浓硝酸 25 毫升加蒸馏水稀释至 100 毫升; 5% 利英纳克铵盐溶液——称 5 克利英纳克铵盐溶于 95 毫升甲醇溶液中。

(2) 测定磷酸胆碱的操作步骤 称取样品 100 毫克置小烧杯里, 加 7.5 毫升“25%”硝酸, 上盖表面皿, 在沸点之下加热 5.5 小时, 然后拿掉表面皿在室温下静置 12 小时。如有杂质沉淀, 可用砂芯漏斗过滤, 滤液加水定容至 10 毫升, 取 8 毫升溶液测定胆碱 (剩余溶液进行无机磷测定)。加固体 NaOH 于 8 毫升溶液中调至弱碱性 (用酚酞指示剂指示), 再加 0.4 毫升 6N

NaOH 溶液使 pH 在 12 以上, 用黑纸包好, 避光, 放于冰箱中, 冷却后加 3 毫升 5% 利英纳克铵盐溶液, 再放冰箱中冷却 3 小时以上。然后在暗室中将溶液用砂芯漏斗过滤得红色沉淀, 用少量正丙醇 (1 毫升左右) 洗 3—4 次, 弃去洗液, 再用丙酮洗沉淀物三次, 得红色清液, 加丙酮定容至 10 毫升, 于波长 526 毫微米下测定光密度。所得光密度读数从标准曲线即可查到胆碱的量。

标准曲线的制图, 可用氯化胆碱配成每毫升含有 20 微克分子的标准工作溶液, 依照上述步骤测定胆碱, 根据光密度读数即可画出。

3. 无机磷的测定

见本刊 1974 年第 3 期《发酵法制备腺嘌呤核苷三磷酸》一文。

4. 过碘酸氧化测定 5'-核苷酸方法

取待测的样品溶液 (含 5'-核苷酸) 0.2 毫升, 先后加入 0.1M 三乙胺 (pH 8.5) 0.2 毫升、0.1M 过碘酸钠 (NaIO_4) 1.6 毫升, 置于 25℃ 水浴中保温 5 分钟。取出加入 1M 赖氨酸 0.4 毫升, 置于 45℃ 水浴保温 90 分钟后, 再加 2M 甘油 0.4 毫升, 置于 25℃ 水浴保温 20 分钟; 如样品为 5'-核苷酸, 则其 5'-磷酸以无机磷形式释放出来, 可进行无机磷的测定。

三、胞二磷胆碱的制备

1. 合成

称取磷酸胆碱钙盐 3.3 克 (10 毫克分子), 用 10 毫升热水使之溶解, 然后加入 1.3 克 (10 毫克分子) 草酸, 用玻璃棒轻轻搅动, 使其溶解; 此时溶液中有乳白色草酸钙沉淀产生, 用 4 号砂芯漏斗抽滤, 得清液。

将清液移至反应瓶内, 在 50℃ 水浴中进行减压浓缩, 浓缩液最后成糖浆状, 然后加 8 毫升 N-二甲基甲酰胺, 在 70℃ 水浴中减压浓缩成糖浆状, 一直抽到无气泡或很少气泡时为止。

称取 2.2 克对甲苯磺酰氯, 加入 3 毫升 N-二甲基甲酰胺, 使之溶解, 溶液呈微黄透明状。

把准备好的缩合剂加入反应瓶中与磷酸胆碱混合, 盖上塞子, 在室温下剧烈摇动 10 分钟, 使磷酸胆碱充分溶解; 此时有大量的气泡产生, 如气泡过多, 可适当打开塞子。再加入 1 克胞一磷 (3.1 毫克分子) 于上述反应瓶内, 室温下搅拌反应 3 小时; 反应完毕, 加 100 毫升蒸馏水使之全部溶解。

取上述反应液进行纸层析 (95% 酒精-1M 醋酸铵, 2:1 v/v, pH 7.5), 结果在胞一磷前面出现一新的紫

$$1) \text{ 比移值 (ratio front)} = \frac{\text{原点到层析点中心的距离}}{\text{原点到溶剂前沿的距离}}$$

$$2) \text{ 迁移率 (mobility)}$$

$$= \frac{\text{原点到电泳点中心的距离}}{\text{某一点的原点到电泳点中心的距离}}$$

外斑点, 其 R_f 值为 0.28 (见图 1)。用 0.02M 磷酸缓冲液 (pH 7.5) 进行电泳, 结果 (见图 2) 此斑点的迁移率为 0.52 (以 CMP 为 1)。

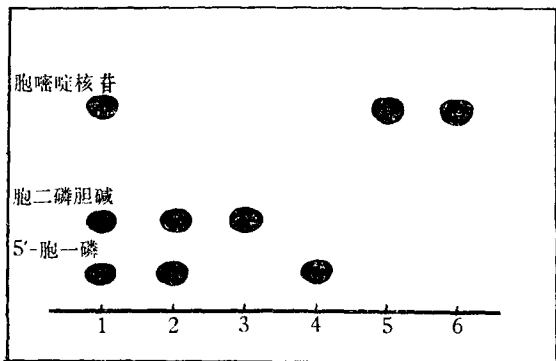


图 1 胞二磷胆碱的纸层析图谱

溶剂: 95% 酒精-1M 醋酸铵(2:1), pH 7.5, 上行法
1——标准样品; 2——反应液; 3——产品; 4——产品 (经 1N HCl, 100°C, 水解 80 分钟); 5——产品 (4, 再经非特异性磷酸单脂酶酶解); 6——产品 (经蛇毒酶解)

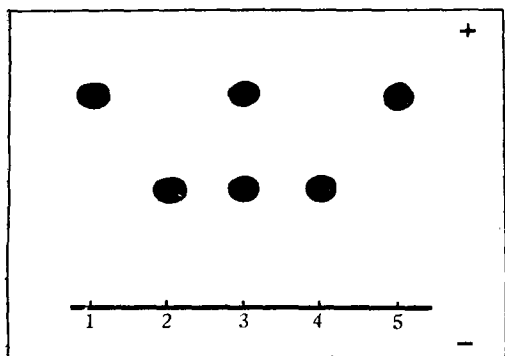


图 2 胞二磷胆碱的纸电泳图谱

0.02M 磷酸缓冲液, pH 7.5; 1——标准 5'-胞一磷; 2——标准胞二磷胆碱; 3——反应液; 4——产品; 5——产品 (经 1N HCl, 100°C, 水解 80 分钟)

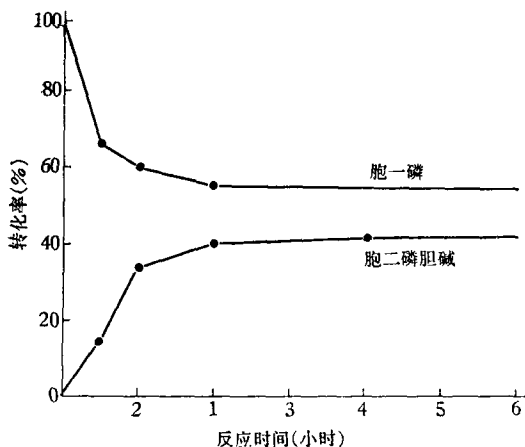


图 3 胞一磷转化胞二磷胆碱的最适反应时间

由胞一磷转化为胞二磷胆碱, 其转化率为 40—50% (见图 3)。

2. 分离

(1) 711(Cl⁻) 型阴离子交换树脂柱层析分离 取上述反应液加水稀释一倍, 用氨水调至 pH 8—9, 上 711 阴离子交换树脂 Cl⁻ 型柱 (20—50 目), 柱高 60 厘米, 直径 3 厘米, 流速每分钟每平方米 2 毫升左右。测定上柱流出液的 260 毫微米吸收值, 观察上柱情况; 上柱完毕后, 用适量的水洗柱, 洗至 pH 6 左右, 用 0.005 M 氯化钠-0.0004 N 盐酸混合液洗脱, 进行分步收集得峰 I。然后更换 0.002 N 盐酸洗脱得峰 II。最后用 0.2 N 盐酸洗脱得峰 III。图 4 表明用小柱 (高 20.5 厘米, 直径 1.1 厘米)、上柱反应液 4 毫升的分离情况。

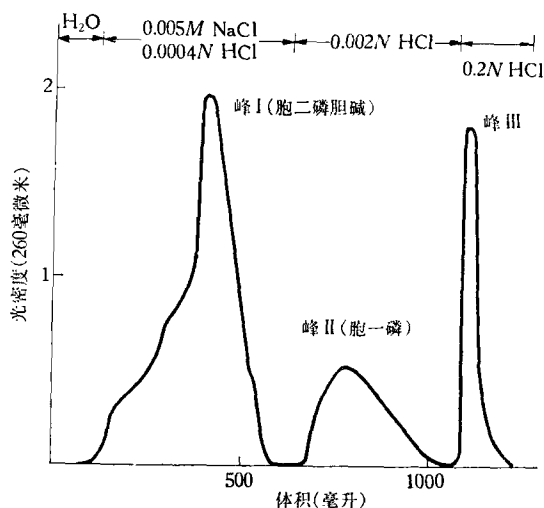


图 4 711(Cl⁻) 阴离子交换树脂分离胞二磷胆碱

经上述分离得到的峰 I, II, III 测定其紫外光吸收的比值见表 1。

表 1 分离各峰的紫外光谱吸收值*

峰	I	II	III
比值			
280/260	1.97	1.92	1.28

* 在 pH 2 时测定

(2) 上 711 (Cl⁻) 型浓缩柱 合并收集到的峰 I, 用氨水调至 pH 8—9, 上 711 (Cl⁻) 型浓缩柱; 柱高 15 厘米, 直径 4.5 厘米, 流速每分钟每平方米 3 毫升。上柱完毕后用蒸馏水洗柱, 然后用 0.01 N 甲酸把胞二磷胆碱洗脱下来, 进行收集, 回收率在 80% 以上。

(3) 浓缩 将浓缩柱洗脱液收集后于 40°C 以下水浴, 反复加入少量的酒精, 减压浓缩至小体积, 然后加 4—5 倍冷酒精, 有白色沉淀出现, 置冰箱过夜; 弃去

上清液,用少量水溶解沉淀,再加4—5倍酒精,依照上面的方法反复2—3次,直至上层清液为pH 5时,加少量水溶解沉淀,用6N氢氧化钠调至pH 5.5—6,加入4—5倍酒精,置冰箱过夜;弃去上清液,得白色沉淀,然后加入丙酮-酒精(4:1),减压抽干,加冷的丙酮刮入离心管离心,沉淀再用冷丙酮洗三次,得白色粉末状胞二磷胆碱-钠盐。每投料1克胞一磷可以得到胞二磷胆碱-钠盐0.6克,纯度88%。

3. 合成胞二磷胆碱的工艺流程(见图5)

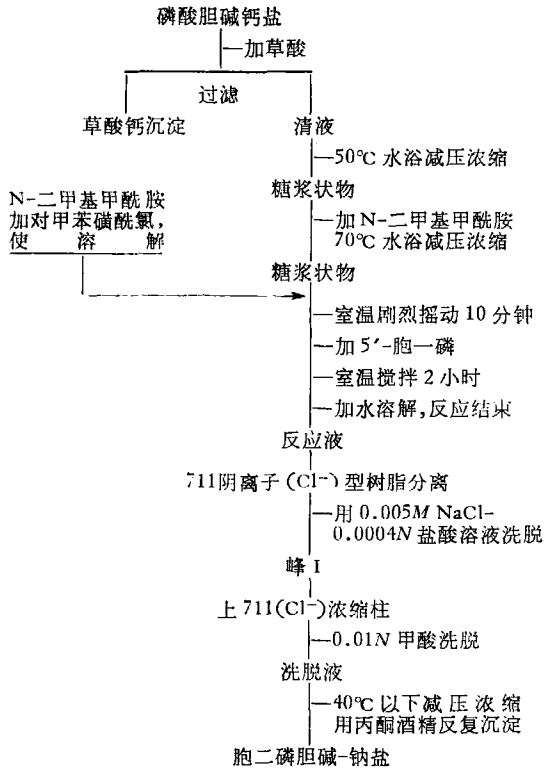


图5 合成胞二磷胆碱的工艺流程

四、产品分析和鉴定

所获得的产品经下列分析,证实为胞二磷胆碱。

1. 紫外吸收特征的测定

我们测定了产品的紫外吸收特征,结果指标正常(见表2)。

表2 产品紫外吸收特征

项目	pH	最大吸收波长(毫微米)	最小吸收波长(毫微米)	比值		
				250/260	280/260	290/260
产品	2	281	242	0.42	2.2	1.6
	7	271	250	0.82	0.97	0.30

2. 酸水解分析

胞二磷胆碱含有一个焦磷酸键,此键可为盐酸水

解,释放出胞一磷和磷酸胆碱两个组份,用来鉴定胞二磷胆碱。

称10毫克样品,加入0.5毫升1N盐酸于100°C水解80分钟,然后进行电泳和层析。纸电泳显示未水解的样品在迁移率0.52处有一紫外斑点,而水解后此点消失,在胞一磷处出现一紫外斑点(见图2)。纸层析也表明样品水解后,胞二磷胆碱紫外斑点消失,只在相应的胞一磷位置有紫外斑点;经喷卓氏试剂和显磷试剂后此点只显蓝色,同时在其前端出现一点,可显桔红色和蓝色,但不具有紫外吸收,是为磷酸胆碱(见图1)。

将样品水解后产生的胞一磷处斑点,从层析纸上剪下,用0.01N盐酸浸泡洗脱,然后用过碘酸氧化方法处理,结果表明水解后获得的胞一磷是5'-核苷酸。

另外取产品的盐酸水解液,稀释至一定量,用氨水调至pH 8—9,上711(Cl⁻)阴离子树脂柱,水解液中的胞一磷被吸附于柱上,而磷酸胆碱则流出;收集流出液,减压浓缩得白色晶体,加入“25%”的硝酸溶液溶解,在接近沸点下水解5.5小时之后,用利英纳克方法和测磷方法分别测定胆碱和无机磷。测定结果是胆碱与无机磷的分子比值为1:0.9,表明产品经水解后,确实产生了5'-胞一磷和磷酸胆碱两个组份。

3. 产品中总磷的测定

将产品用10N硫酸进行消化,然后测定消化液中的总磷量,从胞二磷胆碱的结构可见每一分子的胞二磷胆碱应含有二分子的磷,测定结果见表3。

表3 胞二磷胆碱中的总磷

项目	胞二磷胆碱微克分子	测定总磷的微克分子	胞二磷胆碱:总磷分子比值
产品	8.2	16.1	1:1.96

4. 酶水解分析*

胞二磷胆碱中的焦磷酸键,除可为1N盐酸水解外,并可为焦磷酸酶水解,所得5'-CMP和磷酸胆碱两个组份,又可为5'-核苷酸酶和非特异性碱性磷酸酶所水解。因此,通过酶水解方法可以鉴定产品。酶水解的作用方式见图6。

(1) 非特异性磷酸单酯酶水解 取样品经1N HCl, 100°C, 80分钟水解液,置于pH8, 0.01 M Tris缓冲液中,然后加入大肠杆菌碱性磷酸酶,37°C水浴,保温1小时;停止反应后,测定酶解后溶液中产生的无机磷和胞嘧啶核苷的量,计算无机磷与胞嘧啶核苷的分子比值。同时对酶解后溶液进行纸层析,结果见表4和图1。

* 大肠杆菌碱性磷酸酶和蛇毒酶均由上海实验生物研究所核酸研究组制备供给

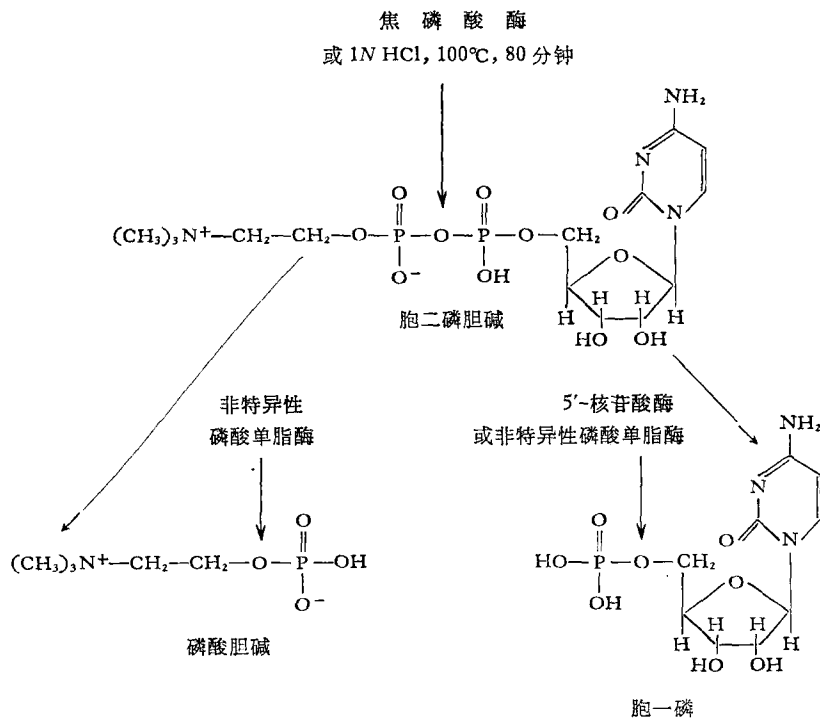


图 6 酶对胞二磷胆碱的作用方式

表 4 胞二磷胆碱的酶水解分析

项 目	测定酶解液中胞嘧啶核苷的 微克分子	测定酶解液中产生无机磷的 微克分子	胞嘧啶核苷: 无机磷 分子比值
产 品 经 1N HCl, 100°C 水解 80 分钟后, 用非特异性磷酸 酶水解	4.79	8.7	1:1.82
产 品 经 蛇毒酶水解	7.8	8.29	1:1.06

(2) 蛇毒酶水解 产品溶于顺丁烯二酸缓冲液中 (pH 6.8), 然后加入眼镜蛇毒 (含有焦磷酸酶和 5'-核苷酸单脂酶), 37°C 水浴, 保温 3 小时后, 加 10% 三氯醋酸停止反应, 离心弃去沉淀, 依上述方法测定胞嘧啶核苷与无机磷的分子比值, 结果见表 4 和图 1。

从以上分析结果, 表明我们制备的产品是胞二磷胆碱。

五、讨 论

关于胞二磷胆碱制备方法的报道很多 (如 Kennedy 等, 1956; Lieberman 等, 1956; Sanno 等, 1962; Letters 等, 1963; Tochikura 等, 1970; Kikugawa 等, 1971; Shirota 等, 1971; 宫内谦吉等, 1972), 但大致可归纳为两种途径, 一种是有机化学合成, 一种是酶促合成如利用酵母等微生物进行生物合成。

有机化学合成胞二磷胆碱的方法也很多, 但通常需要先制备一些中间体如胞一磷吗啡啉瓜盐或胞二磷二酚等, 工艺繁琐; 虽然 Kennedy 曾采用加入大量二环己基羰二亚胺 (DCC), 直接缩合胞一磷和磷酸胆碱来制备胞二磷胆碱, 但 DCC 试剂价格昂贵, 用于工业生产成本过高。我们采用对-甲苯磺酰氯作缩合剂一步缩合 5'-胞一磷和磷酸胆碱的方法, 成本低, 操作简便, 胞二磷胆碱转化率也好。反应时为避免不应有的干扰影响胞二磷胆碱的形成, 要求底物 5'-胞一磷应为单一化合物, 如含量低可以经过再纯化, 但不应有其它核苷酸组份。磷酸胆碱系我们自行制备。所制备的磷酸胆碱应尽可能减少无机磷污染, 这样反应后产物单纯, 易于分离。我们制备的磷酸胆碱含无机磷 4%, 缩合反应效果良好。反应通常在室温下进行 2—3 小时, 我们曾对最适反应时间进行过摸索, 发现反应两小时已达到最高点, 嗣后维持恒定, 此时由 5'-胞一磷和磷酸胆碱缩合成胞二磷胆碱的转化率在 40% 左右 (见图 3)。反应后, 反应液可直接上阴离子交换树脂甲酸型 (CH₃COO⁻) 或氯型 (Cl⁻) 层析柱, 进行分离。用甲酸型阴离子交换树脂以 0.01 M 甲酸洗脱胞二磷胆碱, 优点在于洗脱液经减压浓缩或冰冻干燥, 容易除去甲酸而得到产品, 但缺点是制备甲酸型树脂费时, 成本高, 不适于工业生产使用。用氯型柱, 以稀盐酸溶液洗脱分离, 价廉、方便; 但不同作者采用的盐酸溶液浓度相差很大。Tochikura 等用 Dowex 1×2 (Cl⁻) 柱

以 0.001N HCl 洗脱胞二磷胆碱,以 0.002N HCl 洗脱 CMP; 而 Shirota 等和宫内谦吉等用同一规格树脂但以 0.01 N HCl 洗脱胞二磷胆碱,与前者相差达 10 倍之多。我们曾试用上述两种浓度盐酸溶液来洗脱,未能取得分离效果。我们采用国产 711 交联度为 4 的 20—50 目氯型阴离子树脂,以 0.005 M NaCl-0.0004 N HCl 混合液和 0.002 N HCl 溶液分别洗脱胞二磷胆碱和 CMP, 获得较好的效果。分离后收集到的胞二磷胆碱溶液,据有关报道和我们的结果来看,往往体积甚大,浓度较低,给冰冻干燥或减压浓缩造成困难。为了便于浓缩,我们把收集液再通过氯型阴离子树脂浓缩柱,用 0.01 N 甲酸洗脱,一般浓缩效果可达 4—5 倍,浓缩液再经减压浓缩和酒精反复沉淀,可除去残余甲酸及少量盐酸,获得白色固体产品。但由于通过浓缩柱,仅能回收产物的 80% 左右,因此产量相应减少,这一点有待进一步改进提高。

关于用微生物合成制备胞二磷胆碱, Shirota 等、Tochikura 等、宫内谦吉等报道,用从土壤中筛选的 *Candida S. P. N-25-2*, 或 *Saccharomyces rouxii* IAM 4309 等酵母经空气干燥或冷冻干燥,在磷酸缓冲液中,以葡萄糖供给能源, 5'-CMP 及磷酸胆碱作底物,可合成胞二磷胆碱,得到较好的结果。但是这一方法,对酵母的品种有一定的要求,同时也需先合成磷酸胆碱;虽然作者曾试图用胆碱或氯化胆碱代替磷酸胆碱,但效果远差于磷酸胆碱。Shirota 等用 *Candida S. P. N-25-2* 菌种,在升高氯化胆碱量 4 倍时所合成的胞二磷

胆碱量,仍低于以磷酸胆碱为底物时的水平。在反应过程中,温度需维持在 28—30℃,反应时间要 10 小时,也过长。反应液中产物较复杂,有大量的蛋白质和无机盐存在,必须经过处理除去,造成分离工序繁多不便。利用微生物发酵制备胞二磷胆碱是一种新途径,但由于上述因素的限制,其工艺尚有待进一步改进。

关于胞二磷胆碱的毫克分子消光系数的报道不一,在 pH 2, 波长 280 毫微米时,1956 年 Kennedy 报道为 13.7, 同年 Lieberman 等报道为 13.0; 1960 年 Kennedy 及同工又报道以 13.7 作为胞二磷胆碱的毫克分子消光系数。本文中胞二磷胆碱的分析和纯度测定,均采用 Kennedy 报道的数值 13.7 来计算。

胞二磷胆碱早已被阐明是磷脂代谢的重要中间体。除胞二磷胆碱外,用有机合成方法也制备了其它核苷酸的胆碱衍生物,如腺二磷胆碱、鸟二磷胆碱、尿二磷胆碱等等,但是都不能代替胞二磷胆碱作为生物体内合成磷脂的前身物。Korzybski (1967) 阐明在合成磷脂过程中,胞二磷胆碱所起的辅酶作用要求具有胞嘧啶环,并且环上的 5 位氢和 4, 5 位的双键不能为其它基团所取代,因此有其专一性。近年来报道应用这一代谢中间体治疗脑外伤、脑震荡、神经官能症、脂肪肝等疾病取得良好效果;在与 ATP, B₁ 等药物协同使用时,可获得更满意的疗效,因此胞二磷胆碱是一种较好的生化药物。

[本文于 1974 年 6 月 29 日收到]

(上接第 18 页)

同时,也给出较多的氢离子和电子。这些都直接影响生物氧化体系,加强氧化磷酸化,提高能量代谢水平,促进骨质合成代谢,使钙向骨骼渗入,导致血钙下降。这或许是甲状腺素强化降钙素降钙作用的原因之一,有待进一步研究证实。

4. 甲状腺素对尿中羟脯氨酸的作用

由实验结果可见,单独使用甲状腺素可使尿中的羟脯氨酸增多。

单独注射甲状腺素于摘除甲状腺和甲状旁腺的鼠体内,由于降钙素和甲状旁腺素缺如,所以甲状腺素浓度相对地形成优势。甲状腺素的作用随浓度而转移的双相反应是比较突出的,1958 年 Lehninger 报告,当甲状腺素的浓度增加到一定程度时,可促使心、脑线粒体的氧化磷酸化解除偶联。这样,甲状腺素的浓度高时,实际上促进蛋白质的分解代谢,引起羟脯氨酸在尿中的排出量增多。

* * *

综上所述,甲状腺所分泌的两种激素——甲状腺素和降钙素,在钙代谢调节中有协同的降钙作用;降钙素有直接的降钙作用,甲状腺素则通过加强降钙素的降钙作用而影响钙代谢的调节。因此,过去认为甲状腺素与钙代谢调节无关的传统观念需要重新认识。

甲状旁腺素有显著的升钙作用,而降钙素是其拮抗者;甲状腺素是甲状旁腺素的间接的拮抗因子。当甲状腺素存在的情况下,甲状旁腺素和降钙素之间的拮抗作用更为加强。这体现出三种激素之间相互依存、相互制约的辩证关系。

参 考 资 料

- [1] 李建民,科学通报,1974,3,136.
- [2] Munson, P. L.: *J. Dent. Res.*, **34**,714,1955.
- [3] Prockop, D. J., Udenfriend, S.: *Anal. Biochem.*, **1**, 228, 1960.

[本文于 1974 年 6 月 16 日收到]