



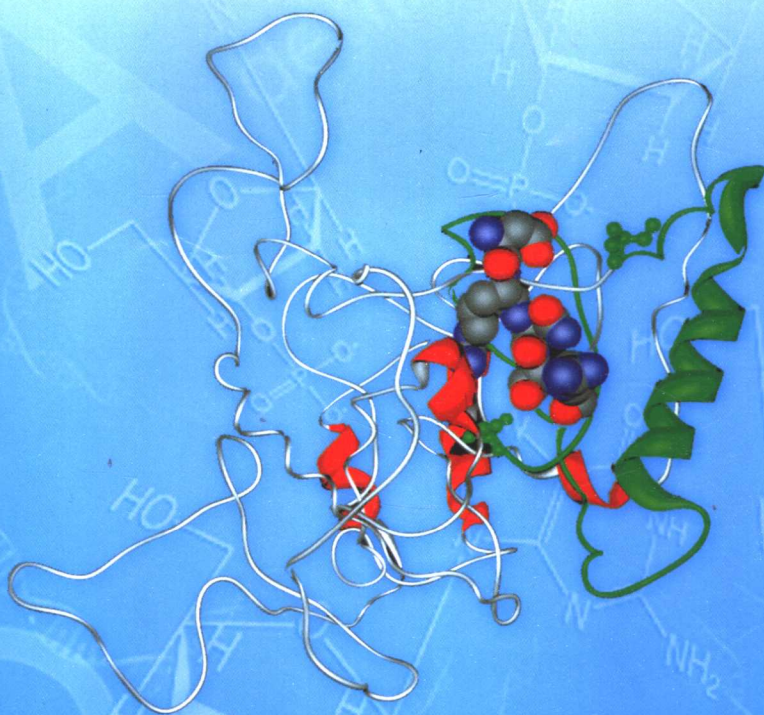
北 京 大 学 药 学 教 材

Pharmaceutical Textbook of Peking University

药 物 化 学 原 理

Principle of Medicinal Chemistry

彭师奇 徐 萍 主 编



北京大学医学出版社

北京大学药学教材

药物化学原理

Principle of Medicinal Chemistry

主 编 彭师奇 徐 萍

编者名单 (以章节先后为序)

彭师奇	北京大学药学院
叶新山	北京大学药学院
王 超	北京大学药学院
张亮仁	北京大学药学院
赵 明	北京大学药学院
徐 萍	北京大学药学院

北京大学医学出版社

YAO WU HUAXUE YUAN LI

图书在版编目 (CIP) 数据

药物化学原理/彭师奇、徐萍主编. —北京: 北京大学医学出版社, 2005. 12

ISBN 7-81071-644-1

I. 药... II. 彭... III. 药物化学—高等学校—教材 IV. R914

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 138060 号

药物化学原理

主 编: 彭师奇 徐 萍

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100083) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E-mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京瑞达方舟印刷有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 暴海燕 责任校对: 杜悦 责任印制: 郭桂兰

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 19 字数: 482 千字

版 次: 2006 年 3 月第 1 版 2006 年 3 月第 1 次印刷 印数: 1-3000 册

书 号: ISBN 7-81071-644-1/R·644

定 价: 28.80 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

序

保健和医药事业的发展是提高全民健康水平、国家生产力和全球竞争力以及保证社会安定和国家安全的重要组成部分。目前,市场经济、资本全球化和世界性技术与资源的竞争,原料药基地全球大转移造成环境污染的转嫁等等不但对我国制药业影响巨大,而且成为影响可持续性发展的重大问题。加以人口老龄化、东西部差别、城乡差别、农村城市化、城市流动人口增长等等一系列社会问题使药品的开发与使用是否得当又成为关系着进入小康社会的重要问题。SARS的爆发以及目前国际形势还提示我们必须对防范突发性卫生事件作充分准备,提示我们要把药物当作特殊商品和战略物资。如何解决这些问题,把它们变成全国医药事业大发展的机会,关键在于提高从事医药事业人员的教育,提高认识水平,提高专业水平,以提高我国医药的综合国际竞争力。为了这个目的,在培养医药专业人员方面要采取不同层次并行的策略。6年制药学目的是培养研究开发有国际竞争力药物的人才。因此,要加强基础、加强科研能力的培养、加强思维能力训练、加强服务竞争。为了这个目标,作为一种尝试,北京大学药学院组织编写了这一套6年制药学专业的教材。一方面供学生学习;另一方面也是向医药界征求意见。我想,科学在发展,事业在前进。当前世界上科学热点不断涌现,新药研究技术不停地更新。但是反观近年来新药研究的历史,可见昨日的时尚今日或许已经淡化;明天的新思路正在不被人注意的地方萌芽。虽然我们的这套教材将会不断修订更新,以适应形势的发展,但是加强基本理论、基本知识和基本技能的训练是我们最重要的原理,我们相信受到良好的基础训练的学生能够在新情况下,应付新的挑战。希望肩负我们的未来医药事业的发展责任的医药工作者在我们这里成长。

中国科学院院士 王夔

前 言

在药学教育的课程结构和药学学生的知识结构中,药物化学都占有重要地位。在研究型大学药学教育的课程结构和药学学生的知识结构中,反映创新知识的药物化学都占有重要地位。虽然药物化学的知识创新涉及众多学科、知识、技术以及相对应的层面,但是从药物化学进展的主流看,药物化学的知识创新主要涉及生物学科、医学学科和化学学科的知识和技术。被高等药学院系采用过的中文版药物化学早期教材注重介绍药物合成、药物理化性质和药效知识。因为药物的物理化学性质和药效知识与通常可以见到的药品说明书相当,所以学过化学的学生觉察不到药物化学与化学的差别。被高等药学院系正在采用的中文版药物化学近期教材已不再注重介绍药物合成知识和药物理化性质,药物的结构、作用靶点、作用机理和效应的关系成为知识主体。药物化学教材的变化,反映了高等药学教育对药物化学知识创新主要涉及生物学科和医学学科的知识和技术已有共识。

药物化学学科发展与学科融合广延的关联,使得药物化学与相关学科的界线模糊化。于是,在编写药物化学教材时作者不得不从区分学科融合与学科加和中把握好设计。否则,药物化学教材容易重复其他学科的素材,例如容易重复化学素材或药理学素材。药物化学学科发展与素材积累广延的关联,使得药物化学主干知识与辅助知识的界线模糊化。于是,在编写药物化学教材时作者不得不从区分素材堆积与知识构建中把握好设计。否则,药物化学教材容易成为药学习典或药物手册。药物化学学科发展与基本理论实用化的关联,使得药物化学教学必需知识与研究必需知识的界线模糊化。于是,在编写药物化学教材时作者不得不从区分教材与专著中把握好设计。否则,药物化学教材容易成为专著或综述汇编。考虑到与化学相关的知识结构应当在化学课程中构建、与药理学相关的知识结构应当在药理学课程中构建、普通药学知识结构应当在药剂学课程和药物分析学课程中构建,“药物化学原理”被定位在介绍对药物的发现与发明有重要贡献的基本理论与方法,包含药物化学在相关学科协助下的发展(彭师奇)、药物作用的物理化学原理(叶新山)、先导化合物的发现与优化(彭师奇)、药物作用的受体理论(王超)、计算机辅助药物设计(张亮仁)、手性药物的立体选择性作用(赵明)和药物的组合化学与高通量筛选(徐萍)等七章。“药物化学原理”之所以仅仅局限在这七个方面,完全取决于学制、教学时数以及作者对素材的认识和把握。

与药物化学学科发展相关联的学科融合、素材积累及基本理论实用化不仅在宏观上具有连续性,在微观上也具有连续性。介绍知识的过程时要体现知识发展过程和历史,在介绍知识发展过程和历史时要体现原理、方法和思维,这对于培养学生的创新能力具有重要性。在组合各章素材时,作者都尽量维护了这种认识。虽然“药物化学原理”已经尽量突出基础知识、基础理论和基本观念,但是仍然有50万字的篇幅。为了使能够把握重点,各章都给出了摘要。虽然“药物化学原理”在介绍基础知识、基础理论和基本观念时已经尽量照顾了完整性,但是篇幅仍然极其有限。为了使能够有阅读空间,各章都给出了一定数量的参考文献。药物的中文名称和药物化学的专门术语不便于查阅国外文献使用,为此“药物化学原理”中的药物名称和专门术语都直接使用英文。为了使逐步适应阅读和发表学术论文的要求,“药物化学原理”中的图表都用英文描述。

在制定“药物化学原理”七章的编写计划时，作者们一致规定一定要围绕药物介绍化学，不能围绕化学介绍药物。该规定与上面谈到的区分学科融合与学科加和吻合。大部分章节取材都没有喧宾夺主。根据各章对“药物化学原理”的真实贡献，在给出了大致的篇幅后内容由作者选择。于是，各章作者有独立的文责权。为了避免文风带来的反差，主编对各章的文字进行了力所能及的修改。“药物化学原理”的风格、内容和目标都不同于现有的药物化学教材。我们真诚地希望“药物化学原理”能够为培养创新型药学人才做出贡献。

彭师奇

2005年8月30日

目 录

第一章 绪 论	1
药物化学在相关学科协助下发展	1
一、分析化学	3
二、生理学	4
三、临床医学	5
四、生物学	6
五、影像医学	7
六、免疫学	7
七、计算机辅助药物设计	8
八、组合化学与高通量筛选	9
九、基因治疗	10
十、再生医学	11
参考文献	12
第二章 药物作用的物理化学原理	14
一、溶解度和分配系数对药效的影响	15
二、电离作用对药效的影响	17
三、表面活性和药物效应	20
四、药物作用的立体化学因素	23
五、化学结构与生物活性	28
参考文献	31
第三章 先导化合物的发现与优化	33
第一节 植物来源的先导结构——从 salicylic acid 到 aspirin	33
一、慢性多发性关节炎可导致关节功能丧失	33
二、大鼠关节炎模型	34
三、慢性多发性关节炎的早期病例	34
四、从柳树皮中发现 salicylic acid	35
五、从 salicylic acid 发现 aspirin	35
六、从抗炎到抗血栓	36
第二节 微生物来源的先导结构——从 doxorubicin 到 4'-modifieddoxorubicin	37
一、从 rhodomycin B 到 daunomycin	38
二、从 daunomycin 到 daunorubicin	41
三、Doxorubicin 与 daunorubicin 的化学关联	42

四、Daunorubicin 化学转变为 doxorubicin	43
五、从 doxorubicin 到 4'-修饰的衍生物及类似物	43
第三节 动物来源的先导结构——从 snake venom 到 captopril	46
一、确定天然活性先导结构	48
二、随机筛选	50
三、依据受体位点从头进行药物设计	50
四、从丁二酰-L-苯丙氨酸的羧酸衍生物到 Captopril	53
五、从甲硫烷酰氨基酸类的构效关系到 captopril	55
六、Captopril 从动物实验到人体实验	58
第四节 药物代谢产生的先导结构——从 pivaloyloxymethyl 6 β -dimethylaminomethyl- neaminopenicillanate 到 pivmecillinam	59
一、意外得到的 6 β -二甲氨基亚甲基氨基青霉烷酸叔丁基羧甲酯意外地有活性	61
二、6 β -脒基青霉烷酸及其衍生物的合成	63
三、从 6 β -amidinopenicillanic acid 到 pivmecillinam	65
四、6 β -脒基青霉烷酸的脒基对活性的影响	70
第五节 随机筛选出的先导结构——从 imidazoline 到 tetrahydropyrimidine	71
一、三重感染小鼠模型	72
二、从随机筛选到 2-(2-thiophenemethylthio)imidazoline	72
三、从稳定的咪唑啉性到广谱抗蠕虫活性	73
四、从 2-[2-(噻吩-2-基)乙基]咪唑啉到 Pyrantel	74
五、从 Pyrantel 到二氢噻嗪	75
六、从二氢噻嗪到新型 Knoevenagel 缩合	76
七、1-(2-芳基乙烯基)吡啶盐与商业考虑	76
八、从 Pyrantel 到 Oxantel	77
九、Hansch 分析与 morantel	77
十、安全性和配方对兽用药的影响	80
十一、从兽用到人用	81
第六节 来源于药效团的先导结构——从 7-aminocephalosporanic acid 到 cephalor	83
一、从 6-APA 到 7-ACA	84
二、从 7-ACA 到第二代半合成头孢菌素	85
三、从 7-ACA 的 C ₃ 修饰到头孢菌素	87
四、7-ACDA 的 7 位氨基酰化与头孢菌素	94
五、Penicillin 与 cefaclor	99
第七节 针对抗药性机制的先导结构——从 R factor 到 amikacin	101
一、从 butirosin 到 kanamycin A 的化学修饰	101
二、Amikacin 的合成以及位置异构体	102
三、Amikacin 的抗菌活性	106
四、Amikacin 的类似物以及衍生物	109
第八节 针对口服吸收的先导结构——从 ampicillin 到 pivampicillin	113
一、从前药概念到青霉素酯	114

二、从实验室研究到规模化生产	116
三、Pivampicillin 的酶促水解和毒理	118
四、Pivampicillin 的药代动力学	119
五、Pivampicillin 的剂型	119
参考文献	120
第四章 药物作用的受体理论	122
第一节 药物—受体相互作用的基本原理	122
一、受体的由来	122
二、受体的本质	122
三、药物受体相互作用的结构特异性	124
四、激动剂和拮抗剂	124
第二节 药物与受体间的相互作用力	128
一、共价键	129
二、离子键	131
三、离子-偶极和偶极-偶极相互作用	132
四、氢键	133
五、电荷转移复合物	133
六、疏水性相互作用	134
七、范德华引力	135
第三节 受体学说	136
一、占领学说	136
二、亲和力和内在活性学说	137
三、速率学说	137
四、诱导契合学说	138
五、大分子微扰学说	138
六、活化-聚集学说	139
第四节 受体理论在药物化学中的应用	140
一、镇痛药与阿片受体	140
二、H ₂ 受体拮抗剂:西咪替丁	143
三、受体介导的靶向药物研究	148
参考文献	150
第五章 计算机辅助药物设计	152
第一节 基本概念与方法	154
一、分子图形学、计算机硬件与软件	154
二、分子的结构表示方法	156
三、分子的构象	158
四、量子化学计算	159
五、分子力学计算	160

六、分子动力学	162
第二节 构效关系	163
一、药效团与构效关系	163
二、定量构效关系	164
第三节 全新药物设计	170
一、生物大分子的三维结构	170
二、基于受体结构的全新药物设计	172
第四节 虚拟筛选	174
一、数据库筛选	174
二、组合虚拟筛选	177
第五节 计算机辅助药物设计应用实例	179
一、SARS 冠状病毒 3CL 蛋白三维结构的同源建模	179
二、HIV-1 蛋白酶抑制剂的设计	181
三、抗心率失常药物构效关系研究	183
四、Cdk4 抑制剂的设计	186
五、非肽类环孢素结合蛋白配体的设计	187
六、tRNA-鸟嘌呤转糖基酶抑制剂先导结构的虚拟筛选	189
参考文献	191
第六章 手性药物的立体选择性作用	193
第一节 药效的立体选择性	193
一、几何异构药物的药效	194
二、光学异构药物的药效	194
第二节 药物分布的立体选择性	204
一、载体介导的药物对映选择性转运	205
二、药物的对映选择性结合	206
三、载体介导的药物对映选择性吸收	206
四、血浆蛋白结合药物的对映选择性	208
第三节 药物作用的构象选择性	210
一、控制药物分子柔性的技术	210
二、环状 acetylcholine 类似物的活性对构象的依赖性	211
三、Arecoline、isoarecoline 和它们的硫拟似物的活性对构象的依赖性	216
第四节 受体与药物结合的对映异选择性	218
第五节 外消旋药物和对映异构药物的利和弊	222
一、Distomer 激发副作用	223
二、Distomer 对抗 eutomer 的药理作用	223
三、Distomer 的代谢产物有不利药理作用	224
四、Distomer 的代谢为毒性产物	225
五、外消旋体和 eutomer 有相同的活性和毒性	225
六、外消旋体的活性高于对映异构体对	227

七、Distomer 经酶转化为 eutomer	227
八、Distomer 对抗 eutomer 的副作用	227
九、药理学研究全貌比较复杂的场合	228
参考文献	230
第七章 药物的组合化学与高通量筛选	233
一、前 言	233
二、组合化学合成概述	234
三、固相组合化学合成策略	235
四、液相组合化学合成策略	256
五、生物活性物质的高通量筛选	268
参考文献	279
附 录	
Subject Index	283

第一章 绪 论

药物化学在相关学科协助下发展

摘要 对疾病具有诊断、预防、缓解和治疗作用或可调节机体功能的化合物称为化学药物。用化学方法半合成或全合成获得的化学药物称为合成药物。普通药物化学涵盖化学药物的结构、理化性质、合成、体内代谢、药效的化学机理、结构与效应的关系以及寻找先导结构的途径和方法。所述七个方面的内容涉及了许多相关学科的知识背景。过去的 100 多年内, 药物化学走过了在相关学科协助下逐步成长的道路。本章从学科层面简单回顾了药物化学发展历程, 从理解药物化学原理的角度扼要叙述了过去 50 年内分析化学、生理学、临床医学、生物学、影像医学、免疫学、计算机辅助药物设计、组合化学与高通量筛选、基因治疗及再生医学等相关学科及领域取得的杰出成就。由于任何学科都不可能游离于别的学科之外独立发展, 所以了解相关学科及领域的知识对于把握药物化学原理不无益处。

19 世纪的前 50 年, 依赖于化学科学与技术从有治疗作用的植物中提取活性成分 (例如提取 morphine、cocaine、caffeine、quinine、atropine) 供临床应用, 这是孕育中的药物化学。

19 世纪的后 50 年, 染料化学与合成化学快速发展, 使焦化产品、染料中间体乃至副产品开始演变为化学药物。于是, 出现了 antipyrine、aspirin 和 phenacetin 等解热镇痛药、苯酚、萨罗和木溜油酚等消毒药、水合氯醛等催眠药, 以及亚硝酸酯类等血管扩张药。稍后又提出了化合物的结构与药理作用的关系。这是酝酿中的药物化学。

19 世纪末, Ehrlich 提出了化学治疗概念并用砷凡纳明治疗梅毒。这一事件开创了化学药物治疗传染病的新纪元。20 世纪初, 药物化学依然依靠化学创造成就。这一时期药物化学根据药物的共同生物学效应, 寻找药物的共同结构。出现了同系原理、异构原理、同型原理、电子等排原理和拼合原理。引出了一系列有效药物, 例如从可卡因发展了普鲁卡因局部麻醉药。此外, 在抗组织胺药、抗惊厥药、磺胺药、巴比妥类催眠药和拟交感神经药等类药物中, 也可以找到共同的基本结构。这是萌芽中的药物化学。

20 世纪的前 40 年, 药物化学开始酝酿新的思维模式。1935 年, 证实百浪多息对于高毒性的溶血性链球菌及其他致病性细菌有高度疗效。虽然 1908 年就已经合成了对氨基苯磺酰胺, 但对氨基苯磺酰胺只用作偶氮染料的中间体。由于完全依托于化学的药物化学认为百浪多息的抑菌作用主要在于偶氮键的染色作用, 因而磺胺未能作为药物走上临床。直到揭示了百浪多息体外无效, 体内激活, 才确定了对氨基苯磺酰胺的基本结构。从此前药开始在药物设计中发挥作用。

细菌繁殖需要二氢叶酸。细菌合成二氢叶酸时, 对氨基苯甲酸是前体。磺胺的结构与对氨基苯甲酸的结构相似。磺胺由于竞争对氨基苯甲酸在细菌中合成二氢叶酸的前体位置而产生抑菌作用的事实, 导致创立抗代谢学说。抗代谢学说既阐明了一些药物的作用机制, 又为新药研究与开发开辟了新途径, 提供了新方法。依赖于抗代谢学说, 一些抗肿瘤药、利尿

药、抗疟药、长效磺胺和磺胺增效剂得到发展。

20 世纪 50 年代发现 penicillin 是药物发展史上一件划时代的大事。Penicillin 的实用化开创了抗生素治疗新时代。后来接二连三地发现高效新抗生素,使这一时期的治疗难题不断地被解决。这些成就不仅增强了化学治疗的地位,还拓宽了药物化学学科疆域。

20 世纪 50 年代以后,对机体酶系统的研究加深了对人体生理和病理状态的认识与理解。生理和生化知识开始成为药物化学的重要背景。例如,使用潜效和前药概念降低药物的毒性或提高药物的选择性,成为药物化学中受到广泛重视的知识。

20 世纪 60 年代初, dichloroisoproterenol 作为 β -受体阻断剂走上临床,不仅开拓了心血管疾病治疗的新方向,还使 β -受体阻断剂的开发获得了格外的成功。期间有 30 多种药物为临床接受。受体理论用于新药研制取得了明显成效。证实受体理论、分离受体和纯化受体提高了新药创制的命中率。例如,证实了脑组织中存在阿片受体后,1975 年便分离到对吗啡受体具有激动作用的内源性脑啡肽和内啡肽。脑啡肽和内啡肽都具有镇痛作用。阿片受体若干亚型的鉴别,构成了新药设计的基础。又例如,由于提出了 H_1 和 H_2 两种不同的受体概念,导致了组织胺 H_2 受体拮抗剂 cimetidine 和 ranitidine 等药物问世。cimetidine 和 ranitidine 对消化性溃疡均有很好的疗效。阐明酶与药物作用的关系,使新药创制与生命过程直接相联系。酶抑制剂成功的例子很多。例如认识了肾素-血管紧张素系统的酶对血压和肾功能控制的作用机理之后,结合血管紧张素转化酶的活性中心和辅助部位设计了一系列抑制剂。血管紧张素转化酶的抑制剂既能阻止血管紧张素 II 的生成,又能抑制缓激肽降解。其中,catopril 和 enalapril 已作为血管紧张素转化酶抑制剂用于临床。这是药物化学发展的重要时期。这一时期,药物化学完成了由单纯化学模式过渡到化学和生物学相结合的模式。在药物化学的发展史上,这是一个重要阶段。这个阶段的到来,标志着药物化学不再是化学的分支。作为一门独特的学科,药物化学在迅速成长。

20 世纪 70 年代药物化学进入了一个全新发展时代。一方面新方法、新试剂和新技术在合成药物化学中应用,使结构复杂天然产物的全合成得以完成、使得有可能在分子水平上研究药物与生物大分子的相互作用、有可能研究酶和受体的结构及性能、有可能研究药物和受体相互作用的空间关系、有可能研究药物在体内的代谢等等。这个时期出现了药理学、医学、生物学和化学全面合作。生物学和医学全面介入彻底改变了药物化学的发展模式。另一方面,新品种和数量大幅度增加,对药物基本结构的认识日趋深化,提出了先导化合物概念,把结构改造提高到了一个新高度。利用物理和数学方法定量描述化合物的结构,使先导化合物的结构改造可以和数值相关联。尤其是计算机参与推动了构效关系研究定量化,并逐步发展成为定量构效关系 (QSAR)。与 19 世纪初的药物化学不同,数学和物理学的全面介入使药物化学开始摆脱被动与盲目。这个时期还出现了内源性物质作为药物化学研究主体之一的趋势,药物化学开始了与生命过程逐步相融的发展历程。

1963 年 Nirenberg 等译解了从人到细菌都使用的核苷酸序列代表的遗传密码,理解了核苷酸与蛋白质结构之间的关系。几乎同时,索姆杰的分析技术以及 Adam 的蛋白降解方法的改进使快速、自动测定蛋白质的结构有了可能。也就是在这个时期,多肽合成取得了突破性进展。1963 年, Merrifield 发明了固相合成法。很快,多肽自动合成仪进入到实验室和制药工业。这些成就使药物化学家用 10 毫克样品,在一天之内就可以测定含 100~200 个氨基酸残基的蛋白质序列。按照测得的结构,不仅可以快速合成期待的生物活性多肽,也可以根据功能蛋白的结构推定基因的核苷酸序列。

继蛋白质之后，核酸研究取得了同样辉煌的成就。1976 年，Gilbert 和 Maxam 建立了 DNA 快速分析法。一年后，核酸自动分析仪便投放市场。使用核酸自动分析仪，一名操作人员一周可以测定含 1000 种核苷酸的 DNA 序列。接着，自动合成 DNA 的基因装配器进入实验室和制药工业。这些成就使药物化学家有能力合成各种基因片段，并利用测定的遗传密码推断功能蛋白的结构。蛋白质和核酸研究中取得的这些成就，终于导致了生物技术的迅速发展。1977~1979 年，Boyer 和 Itakura 等合成了人体生长激素释放抑制因子和胰岛素的基因，并用波格尔等的基因重组技术，把这些基因引到大肠杆菌的细胞中，第一次实现了人类基因在细菌细胞中表达。利用蛋白质和核酸的研究成就，药物化学家可以制造突变的基因、可以制造修饰的蛋白、可以在微生物或动物的细胞中大量表达像胰岛素、白细胞介素、干扰素、人生长激素、肿瘤坏死因子和红细胞生长素一类的多肽药物。

简单列举蛋白质和核酸领域的进展，使药物化学更具活力。虽然目前在药物化学中有各种方法学可供比较合理地进行新药设计、可供比较合理地合成各种结构的药物，但站在药物化学学科高度看，今天的药物化学仍然喜忧参半。药物化学作为一门学科虽然已经成熟，创立了自身的理论体系、方法体系和技术体系，已经创制了近千种药品供临床挑选，但在所有的疾病中，仅有大约 1/3 左右可以得到满意治疗。一些常见而且危险的疾病，例如癌症、病毒感染，以及循环系统疾病仍需做出巨大的努力，将有希望的开端发展成为确实的治愈。

一、分析化学

20 世纪 50 年代涌现了许多新的仪器和设备，这些仪器和设备最终都被用于医学领域。1951 年，医学领域开始运用图像分析显微镜。1952 年，超薄切片和固定法在研究细胞内结构尤其是研究线粒体结构的电子显微镜中日趋成熟。1953 年，正是借助于由费城 Gibbon Jr. 发明的心肺机的帮助，才成功地完成了第一例心脏外科手术。在医学微生物学领域特别有意义的而且最终导致生物技术的发展是细菌菌落自动计数器。1952 年英国的 Martin 发明了气-液分配色谱仪。三年后，这种色谱仪商品化，为化学分析提供了一种有力的新型研究技术。1954 年，德克萨斯仪器公司引入硅电子晶体管。硅电子晶体管是一项包罗万象的技术。从晶体管化的分析仪器到更新的计算机和小型化的半导体也开始大批量生产。20 世纪 50 年代中期，随着微量天平电磁学原理的发展，CT 样机问世。1958 年，羊水诊断技术问世。苏格兰医生 McDonald 将超声波技术率先用于医学诊断和治疗领域。辐射微 pH 电极被丹麦化学家用于血液分析。随着计算机技术的进一步改进，德克萨斯的 Kilby 于 1958 年发明了集成电路。1959 年，聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 的关键技术取得了突破，使得对核酸和蛋白质进行生物分析成为可能。

在原子能应用领域的大跨步发展，导致不少国家的政府发展核医学。1951 年，美国 Brookhaven 国家实验室开放了第一家医院以用于核医学研究。7 年后，医学研究中心开始致力于寻找新技术和新仪器。1959 年建成了 Brookhaven 医学研究反应堆，使得用于治疗和研究目的的医用同位素不仅更便宜而且更易得。将同位素用于研究目的最重大的突破之一是 1952 年位于布朗尼克斯的威特伦斯医院的 Sussman 和 Berson 运用放射性免疫测定法 (RIA) 检测跟踪体内的抗体、激素和其他蛋白质。

20 世纪 60 年代，分析化学家们越来越多地把注意力转向新药物发现和药物相关的分析以及在生理学和基因学领域相关的有意义的基础性生物学问题。随着新技术被广泛用于对原设计好的仪器进行改造，并用于生物医学领域。高效液相色谱仪的实用化，使复杂大分子的

分离成为可能,预示了生物技术时代来临。1959年 Yalow 和 Berson 发明的放射性免疫实验,在 1960 年进一步完善。组织培养也不断发展。更多更好的新药可以进行体外实验。与放射性示踪剂和放射性免疫实验相结合,使生理学在各个领域取得了突破性进展。例如,1964 年 Porter 和 Roch 发现了第一个细胞膜受体。分析化学仪器的发展,例如气相色谱与质谱联用仪的发展,使分子结构分析产生了质的飞跃。实验室自动化,包括初级机器人在实验室应用,开始成为实验室发展的一种标志。

为了使药物设计更加合理化,同时培养并发展以基因组和蛋白质组为基础的应用研究,20 世纪 90 年代开始采用新老技术结合的方法,以便适应制药工业的需求。20 世纪 90 年代,质谱用于生物样品分析进入了复兴时期。质谱技术不断更新,出现了高性能的仪器。例如,傅立叶变换离子回旋加速器共振质谱和多维质谱,可以检测生物大分子。技术改进,例如在峰储存中加入了多种二维技术,达到了以前不可想象的程度。峰储存是指降低进入质谱仪的柱流速,测定那个时刻的峰,差不多同时使样品裂解并分析。这些变化,无疑为研究细胞代谢和基因调控中的复杂大分子提供了工具。不断提高生物信息学研究的复杂性,并将多维运行数据加以分析之后,补充作为新知识的基础。结合高压液相和各种毛细血管电泳技术,质谱已成为在药物化学研究与发展过程中重要的一部分,为确认药物靶点和蛋白质功能提供了一种新的研究手段。

同样,多维核磁技术的发展,特别是那些更有力的研究仪器(例如 500 兆的核磁共振仪)为在水环境中研究蛋白质和多肽的结构打开了一扇大门。水环境更接近蛋白质或多肽的真实生物环境,利用新的核磁共振技术使我们可以研究蛋白质的柔性(柔性是生物大分子活动程度的量度)和与其他分子相互作用过程的动力学。这些事件,都是蛋白质的生化功能,特别是受体和靶分子(包括蛋白质药物)研究领域的重大进展。

利用这些仪器采集数据,并将数据汇总,通过计算机计算,模拟蛋白质的三维结构,从而可以直接观测到配体与蛋白质活性部位的结合。三维结构提供了生物功能的信息,包括反应的催化作用与 DNA、RNA 及其他蛋白质的结合情况。在药物设计中,通过研究配体与靶蛋白的结合情况,可以获取有意义的结果,例如获取与细胞生长或细胞死亡相关的信息。利用新技术研究疾病过程中靶蛋白的结构,了解它的活性部位或配体结合位点,通过合理的药物设计寻找引起某种应答的抑制剂或激动剂。结构与生物功能的相关性(即结构与生物活性的关系,或称 SAR)构成了生物信息学革命的基础。20 世纪 90 年代,构效关系构成了蛋白质组和基因组转化为医药产品这一过程的基础。

二、生理学

随着新仪器、放射性同位素和实验技术的飞速发展,不仅推动了生理学的发展,同时也带动了医疗的繁荣。例如,1950 年哈佛大学的 Bloch 运用¹³C 和¹⁴C 示踪跟踪研究了体内胆固醇的状况。同年,比利时的 A. Claude 用电子显微镜研究内质网。在这十年间,人体内的新化合物和新结构不断被识别。1950 年,脑内的 γ -氨基丁酸被识别。不久,意大利生物学家 Levi-Montalcini 阐述了神经生长因子的存在。1955 年在德国 Lynen 分离到了关键酶的辅因子,乙酰辅酶 A。1956 年,首次分离得到人生长因子。同年,波士顿大学的 Boyd 依据血型将人分为 13 种类型。

在生物技术方面也取得了实质性突破,1952 年,费城癌症研究所的 R. Briggs 和 T. King 成功地将一只青蛙卵的细胞核移植到另一只青蛙的体内,无疑,这可称作现代克隆技

术的先驱。在生物技术领域最有重大意义的进展莫过于提出基因治疗和特异性靶点的概念。镰状细胞性贫血是由正常血红蛋白和镰状血红蛋白之间的一种氨基酸存在着差异造成的。1956年证实了1898年估计的人类24对染色体的数目实际上是23对。1959年,从形状和数量上来检查染色体的异常已成为一项重要的诊断技术。同年,确认了唐氏综合征病人有47条染色体而不是46条染色体。

作为免疫学快速发展的先驱,1959年,澳大利亚病毒学家 Burnet 提出了他的关于抗体产生的克隆选择学说。他认为抗体被选择和扩大是源自早已存在的模板而不是源于设计好的模板。

三、临床医学

在20世纪60年代,肺不再是引起研究和公众兴趣的唯一重要器官。从心脏移植和血压控制疗法到血压控制性药物,出现了针对血流进行的医疗技术。1960年,自组装的晶体管化的起搏器问世,在整个20世纪60年代,器官移植随着第一代免疫抑制药物的发展已开展得很普遍。1967年,DeBakey实施了冠状动脉旁路手术。同年,临床医师 Barnard 实施了第一例心脏移植手术。1968年,针对血管治疗和诊断的血管成型术得到发展。

20世纪60年代后期,离心和过滤等方法大大地改善了分离手段,终于可以得到浓缩的血液因子。采用血浆分离置换法从血浆中离心分离得到血红细胞后,又将其余的全部细胞返给供血者,这种技术上的进步允许献血者每周献2次血,而不是像以往那样需要隔几个月才能再献血。血浆制品工业的蓬勃发展使这个时期血浆制品的收集、分配和生产过程日益泛滥。因为对肝炎病毒的恐慌,美国废除了所有有关从不同献血者得到的血浆的消费许可。20世纪70年代,因为在供血者当中有大量的营养不良的街头乞丐、药物滥用者、不健康的居民和监狱服刑犯等等,供血者问题进一步引起了重视。

1970年,威斯康率大学 Temin 和麻省理工学院的 Baltimore 各自独立发现了病毒逆转录酶。发现某些RNA病毒(又称逆转录病毒)在各自基因工程的译本上能复制自身的DNA。这种病毒DNA能整合成被感染的宿主细胞,然后转变为癌细胞。在后来的几十年间,逆转录酶变得对病毒学研究至关重要。在1960至1970的十年间,虽然许多基于动物的癌症病毒的研究成果纷纷涌现,但最终证实这些结果并不适用于人类。寄希望于传统的疫苗技术来治疗这类疾病的努力,也以失败而告终。

其他研究进展也有助于扩展对癌症机理和起因的理解。例如,1978年敦提大学 Lane 首次发现了癌症抑制基因 P53。1979年,从恶性癌细胞提取DNA,转至培养的鼠细胞,使鼠细胞变成了肿瘤细胞。这些成果为肿瘤研究提供了新的工具。20世纪70年代初,虽然采用了许多手段来治疗癌症,但真正有效的治疗手段却为数不多。外科手术只能针对容易定位的明显的肿瘤。其他肿瘤必须采用外科手术与化疗和放疗相结合,或用化疗和放疗完全取代手术。肿瘤学研究与其说是实用的治疗手段,倒不如说是一门艺术。在癌症治疗中由于有太多的限制条件和太多的变量无法把握,所以不可能存在千篇一律的治疗方案或普遍有效的治疗方法。不过,20世纪70年代还是有一些显著成功的例子。圣约翰医院的 Pinkel 医生用化疗与放疗相结合,成功地治疗了急性淋巴细胞白血病。1968年,异源骨髓移植研究取得的进展,使该疗法成为可能。随着自体同源骨髓移植的进展,用化疗和放疗联合治疗便取得了真正的突破。这种治疗于1977年首次用于治疗淋巴瘤患者。自体同源移植操作的主要做法是,取出患者自身的骨髓,低温储藏后用高剂量药物处理或放疗处理。然后把这种处理过的骨髓

重新注入到患者的骨髓腔内。因为自体同源骨髓中可能含有污染的肿瘤细胞，所以曾采用各种方法试图去除这些肿瘤细胞或使肿瘤细胞失活。采用过的措施中包括抗体、毒素甚至体外化疗法。弗里德霍金森癌症研究中心的 Thomas 发展了骨髓移植术并因此而荣获 1990 年生理学及医学诺贝尔奖。尽管初期的骨髓移植只是用于治疗白血病，但到 20 世纪末，骨髓移植术结合高剂量化疗方案已成功地治疗了霍奇金病、多发性骨髓瘤、神经母细胞瘤、睾丸癌和乳腺癌等癌症。

1975 年世界卫生组织调查的结果显示，乳腺癌的死亡率并没有下降的趋势。许多乳腺癌患者采用乳房根治切除术并没有取得真正的疗效。主要是因为乳腺癌发现得太晚，而且已发生了大面积转移。面对这种现实，其他可供选择的和辅助性治疗研究便成为研究热点。1975 年，美国合作研究结果显示，乳腺癌手术治疗之后再结合溶肉瘤素化疗，疗效显著。从而，迅速证明了联合治疗的有效性。1976 年在意大利的米兰开始比较单独手术治疗与手术加化疗的死亡率。用于联合治疗的化疗药物有环磷酰胺、甲氨蝶呤和 5-氟尿嘧啶。结果显示，手术加化疗比单纯手术治疗的疗效明显要好。而且，化疗开始迅速成为乳腺癌治疗的方法之一。

四、生物学

20 世纪 60 年代，组织培养方面取得的进展构成了生物学的最重要突破。即 1965 年，Weiss 和 Green 发明的躯体细胞杂交，使实施人类基因组计划成为可能。通过“分子粘合剂”Sendai 病毒把鼠细胞和人细胞融合在一起，迅速发明了既含有大量鼠染色体，又含有类染色体的新细胞系。这种新细胞系全部表达单一蛋白。这样，人类的蛋白质便首次与单一人类染色体关联起来。这种关联意味着将有可能勾画出人类基因图。另外，发酵技术的相当重要的发展也构成了生物学的巨大进展。

疾病病因学的突破改变了人类对传染性疾病的理解。1961 年，脊髓灰质炎病毒受体与已分离的已知种群的致病原因相关联。1967 年，确认了白喉毒素的作用机制，提供了第一个用分子定义的细菌蛋白致病因素。

20 世纪 60 年代，结构生物学也空前发展。1960 年，Kendrew 报道了第一个蛋白精管的三维结构的 X-衍射高分辨图谱。影像分析与电视扫描首次结合，增加了运用配体的可能和解释配体影响的可能。1967 年，Perutz 和 Muirhead 构建了第一个蛋白质（氧合血红蛋白）的原子结构高分辨模型，推动了蛋白质结构分析研究。计算机在处理实验过程和实验结果中显示出的能力同时又显示出它的无可替代性。计算机在分子分析方面显示的优势尤其无可争议。

1961 年出现的凝胶电泳对生物技术的发展乃至整个制药工业都产生了重要影响。凝胶电泳技术可以用来分离和纯化高分子量的化合物，特别是分离 DNA。1963 年，第一个胶片剂量测定装置被引入到英国，大大方便了实验室工作。1966 年，磁盘分散标准化实验被用于检测和评价抗体，无疑为制药业开发新药提供了方便。

在 20 世纪 60 年代，尽管许多技术都已提供了许多方便，包括高压液相色谱仪，气质联用仪和自动合成 DNA 和蛋白质仪的实用化，新的知识框架已经形成。到 20 世纪 70 年代和 80 年代，从破译遗传密码到发现限制性内切酶的突破便结出了硕果。