

DOI: 10.13376/j.cblls/2015095

文章编号: 1004-0374(2015)06-0676-05



戴立信 (1924—), 有机化学家, 中国科学院院士, 中国科学院上海有机化学研究所研究员、博士生导师。主要在高选择性有机合成反应, 特别是不对称合成方面开展研究。

丁奎岭 (1966—), 中国科学院上海有机化学研究所研究员、博士生导师。有机化学家, 中国科学院院士, 现任中国科学院上海有机化学研究所所长。主要从事手性催化和绿色合成领域的研究。



朱晶 (1981—), 华东师范大学哲学系副教授。2008 年获北京大学理学博士学位。研究方向: 化学史, 科学方法论。

## 从合成结晶牛胰岛素到合成我们的未来

戴立信<sup>1</sup>, 丁奎岭<sup>1</sup>, 朱晶<sup>2</sup>

(1 中国科学院上海有机化学研究所, 上海 200032; 2 华东师范大学哲学系, 上海 200241)

1965年9月17日, 中国科学院上海生物化学研究所(生化所)、北京大学化学系和上海有机化学研究所(有机所)的科学家宣布获得人工合成的牛胰岛素结晶。关于人工合成结晶牛胰岛素, 有从国家与科学、政治运动与科学、大科学时代的科学等各种视角对其进行的细致探讨, 但若将这项成就置于人类理解生命的历程中进行考察, 探讨化学合成领域的变革与生命科学的发展之间的关系, 探讨

中国的科学家在特殊时期对科学精神的理解和推动, 人工合成牛胰岛素在合成科学层面以及在中国科学发展进程中的意义, 则以一种特殊的方式凸显出来。

### 1 合成具有生理活性的大分子

生命的过程归根到底就是生物体内一系列的化学变化过程<sup>[1]</sup>。在今天, 不论是物理学、生物学还

是医学、化学都是这些“理解化学变化的学科”的基础, 是一门中心科学。而在人类认识生命的历程中, 因为合成科学, 科学家对生命科学的理解发生了几次重要的变化。

1828年德国化学家维勒(Friedrich Wöhler)合成尿素, 首次实现了从无机物合成有机物, 改变了有机物只有生命体或是通过“生命力”才能产生、而人工是无法合成的观点, 这是合成化学与生命科学第一次被联系在一起。

但是生命毕竟是极其复杂的体系, 而尿素又过于简单, 因此生命力学说并未退缩。在当时的认知程度上, 巴斯德(Louis Pasteur)在1851年又提出了不对称性是在生物的和非生物的化学之间唯一的明确的分界线。对称的物理力或化学力被认为不能产生分子的“不对称性”<sup>[2]</sup>。但是在20世纪60年代, 日本的野依良治(Ryoji Noyori)和美国的罗伊斯(William S. Knowles)采用了非对称的化学力, 相继在不借助任何生物条件下实现了不对称催化反应, 创造了分子的不对称性。而这样的不对称催化反应, 过去认为只有自然界的酶才可能实现<sup>[3]</sup>。又经过发展, 现在有的不对称催化反应的效率已经超越了生物酶的活力。

另一方面, 费歇尔(Emil Fischer)在20世纪初首先提出氨基酸通过肽键结合形成多肽的观点, 确定了蛋白质分子的氨基酸基本骨架, 迈出了用化学合成来实现从氨基酸到蛋白质的第一步<sup>[4]</sup>。

接下来的问题是, 能不能合成一种物质, 能够产生生理活性呢, 但问题并不简单。有的氨基酸上有多个活性基团, 到20世纪50年代初, 才只有五、六个氨基酸联结的肽段, 直到1953年迪维尼奥(Vincent du Vigneaud)将有机化学的研究成果成功地应用于生物化学和生理学领域, 从氨基酸出发合成了第一个天然多肽激素——催产素, 并且合成得到的催产素展示了应有的生理活性。这虽然只是一个九肽, 却提供了人工合成更复杂的含硫多肽的途径。但九肽催产素毕竟还是一个人们公认的小分子, 分子量约为1007<sup>[5]</sup>。1955年, 桑格(Frederick Sanger)完成了胰岛素(第一个蛋白质)的测序工作, 使它成了一种可能合成的对象<sup>[6]</sup>。但因为胰岛素有空间结构, 即使克服巨大的困难, 合成了具有胰岛素一级结构的肽链, 若不能把它折叠成既定的空间结构, 依然得不到具有生物活性的胰岛素, 因为当时对生物大分子的高级结构与初级结构之间的关系尚不明晰, 胰岛素的初级结构是否含有决定天然分

子活性结构的信息等都是尚未解决的问题。在合成方法上, 人工结晶牛胰岛素的合成也极大地挑战了科学家的智慧。因此, 人工牛胰岛素的成功合成, 是合成科学方法上的重大进步, 同时在合成科学的概念上往前突破了一大步。科学家用化学的方法, 人工合成到了一个很大的分子, 又具有很好的生理活性, 不仅是合成科学取得的成果, 更重要的是, 它促进了科学家对生命的理解。从这两个层面上来看, 结晶牛胰岛素的人工化学合成, 具有特殊的意义。

## 2 合成牛胰岛素工作中的科学精神

合成牛胰岛素的设想, 是在“大跃进”时期提出来的。1958年12月21日, 生化所最终确定了人工合成胰岛素的课题, 并采用“五路进军”、“智取胰岛”的方案进行积极探索。邹承鲁等人对“胰岛素还原型A、B链可以重组成天然胰岛素分子”的发现, 确定了60年代中国人工合成牛胰岛素的路线。这项工作的意义还在于, 拆散的A、B二个链, 重新组合后仍能有生理活性, 说明了正确的一级结构能够自我组装成必需的空间结构。这也消除了人们心中的疑惑, 大大增强了工作的信心。

1960年5月5日, 有机所接到中科院院党组交代下来的突击任务, 正式参与到牛胰岛素的合成工作中来<sup>[7]</sup>。中国科学院上海分院党委书记王仲良亲自挂帅, 指挥生化所、有机所、药物所、细胞生物学所、生理研究所等五个研究所进行“大兵团作战”。有机所的工作由汪猷负责, 参与牛胰岛素A链21肽的合成, 这是突击工作的一部分。有机所的党总支书记、副所长边伯明和学术秘书汤寿樑在5月10日也加入到指挥工作中, 并增加了中专院校的学生17人<sup>[8]</sup>。袁承业、陆熙炎、屠传忠、陈毓群、徐杰诚、张伟君、汤永褪、胡振元、王志勤等研究人员和技术人员共140人<sup>[9]</sup>, 约为当时全所的三分之二的研究人员参与到胰岛素A链的合成之中。在A链的合成中, 他们采取了大小不同的肽段来合成更大的肽的方法, 对保护基的使用和脱除进行了设计。1960年10月, 有机所的人员基本上完成了A链1~5五肽以及6~21十六肽的合成。其中合成了牛胰岛素A链中的A<sub>6-12</sub>、A<sub>13-16</sub>、A<sub>17-21</sub>、A<sub>13-21</sub>、A<sub>10-21</sub>、A<sub>6-21</sub>各片段多肽, 并对其中的三种:A<sub>13-16</sub>、A<sub>17-21</sub>、A<sub>13-21</sub>各肽进行了光学纯度的鉴定。在合成多肽片段时, 他们尝试和对比了不同的合成方法, 如混合酸酐法、叠氮法缩合等, 特别是, 他们使用熔点测定、

元素分析、纸层析、旋光测定和红外光谱等多种国内学者当时使用较少的方法，边合成边检测。同时离子交换法这种新技术也被应用到合成中，而且备受期待<sup>[10]</sup>。

1960年底，科学院的胰岛素“大兵团作战”结束。在有些单位将“大兵团作战”阶段所获得的产物当成垃圾倒掉时，有机所还留了一点用于继续提纯和分析，并陆续整理出了3篇研究论文在《化学学报》上发表。此后的胰岛素工作变为各个单位自行研究的状态。汪猷认为这项工作选题是好的，既然已经开始了工作就没有理由放弃。他和一个四人小组始终坚持了下去。1963年10月，汪猷去北京参加人大会议，邢其毅请他到北大做学术报告，进一步商谈了胰岛素协作事宜，并改变了A链的合成方法，由原来的5加16变为9加12，即先分别制取氨基端九肽和羧基端十二肽，再经过叠氮法缩合成带保护基A链。在协作方式上，由北大合成A链的前9肽，有机所合成A链的后12肽，生化所仍合成B链，并负责连接A链和B链。1964年初，北大化学系的陆德培、李崇熙、施溥涛、季爱雪和叶蕴华等五位教师来到上海，和有机所的研究小组一道工作。A链合成工作进行了重新部署，北大和有机所的工作人员统一做了安排，分成三个工作小组，分别负责前九肽和后十二肽的合成以及分析鉴定工作。1964年后，有机所在汪猷的带领下，研究人员徐杰诚、张伟君、陈玲玲、钱瑞卿，以及实验辅助人员刘永复、王思清、姚月珍、李鸿绪等进行胰岛素的合成工作。考虑到A5-9肽已经有一定数量，所以1964年10月开始，他们将工作集中在制备A1-4四肽上。而且由于A19-21三肽的得率较低，他们尝试不同方法，即用活化酯逐步合成法，或用叠氮法缩合以期待提高得率。1965年5月，胰岛素A链的合成实现，并进行了与天然胰岛素B链的组合。当A链和生化所合成的B链积累到一定量时，杜雨苍、张伟君、施溥涛三人汇合在生化所，见证了用人工合成的胰岛素A链和B链做全合成试验，并最终于1965年9月17日得到了牛胰岛素结晶。

回顾牛胰岛素的合成工作，科学研究中的协作和团结一直是王仲良、王应睐、汪猷等坚持的原则。这项工作中，中国科学家在特殊时期对待科学的态度以及科学精神也得到凸显，特别是他们对待科学研究的严谨，这与当时“浮夸”的风气是格格不入的。汪猷的研究风格在胰岛素的工作中显现出来，特别是他对合成科学中严谨的把握和强调。据胰岛素参

与者徐杰诚的回忆，在A链的合成中，为了检定每一步缩产物的纯度，从原料到每一个中间体片段，从小片段到大片段，汪猷都要求通过元素分析、层析、电泳、旋光测定、酶解及氨基酸组成分析，“其中任何一项分析指标达不到，都要进一步提纯后再进行分析，力求全部通过。当时我们戏称这叫过五关、斩六将”<sup>[11]</sup>。因为在胰岛素全合成近200步的反应中，任何一步的产物不纯，都会影响到以后的合成。这也是汪猷非常强调元素分析等分析方法的原因所在，也只有如此，才能保证科学研究的可重复性和可证实性。正是因为如此，才能高质量地实现了全合成。胰岛素的合成进行了多次重复实验，其中A链21肽合成过30批，半合成进行了60次，人工全合成A链和B链共重复了27次，分16批进行，其中两批进行了结晶。中间肽段通过几种方式合成，增加了可靠性。关键数据经过多次重复<sup>[12]</sup>。

除了在合成工作的前期阶段，希望得到一整套很完整的分析数据来证实中间产物的纯度以保证合成过程的可靠性之外，当1965年9月17日得到结晶时，即便清楚地知道这项工作在国际上取得发现的优先权的重要性，在1965年11月国家科委为人工合成结晶牛胰岛素举行的鉴定会上，以汪猷为首的一些有机化学家认为证据还不够充分，并给出结论：“可以认为已经通过人工全合成获得了结晶牛胰岛素”，并希望“对于全合成最后结晶产物，应进一步分析鉴定，以期获得更为充分的证明”<sup>[13]</sup>。此后，生化所、有机所和北大三个单位的人员又对胰岛素结晶进行了电泳、层析、免疫双扩散、抗血清中和试验以及酶解、兔血糖测定等测试，发现所合成的结晶产物，其带电荷的性质、层析行为、免疫化学性能、一级结构中的三个硫硫键的结合方式，以及降低血糖的生理作用，均与天然胰岛素无异，“这些数据充分证明了，我们所合成的结晶产物就是结晶牛胰岛素。”<sup>[14]</sup>在1966年4月15—21日，人工合成牛胰岛素鉴定委员会在北京举行的扩大的第二次会议上，肯定“上述结果充分证明了人工全合成的结晶产物就是牛胰岛素。”

特别值得一提的是，除了对科学研究可证实性的强调，中国科学家对新的分析技术的建立也很敏感。在中国科学家进行牛胰岛素的合成时，国际上的多肽合成工作刚刚展开，而一些新的合成多肽的方法也才刚刚出现，他们在合成过程中采用的分析技术都是国际上新出现的，如纸层析、电泳、离子交换、逆流分溶等方法，而分析技术对合成科学的

重要性不言而喻。这些方法如何获得? 据陆熙炎的回 忆, 在 1952—1958 年期间跟随汪猷进行链霉素研究的过程中, 有机所的研究人员在汪猷的指导下, 自己建立了高真空和短程蒸馏、逆流分溶、离子交换树脂和纸层析等国际最新分析技术。当时离子交换树脂要自己合成, 纸层析时用哪一种纸也要自己摸索。我们看到, 这些分析技术的建立, 无疑为后来的胰岛素合成工作提供了坚实的基础。如在 1965 年 4 月 4 日至 8 日, 有机所与北大召开了关于胰岛素合成的会议上, 除了提出要在实现拿到活力不低于 0.5%~1.0% 的全合成胰岛素物质的指标, 还要“争取搞一点逆流分溶工作, 为提供 21 肽准备一些条件”。

对科学研究严谨性的追求、对新的分析技术的建立和探索, 不仅对胰岛素的合成而言起到了推动作用, 更重要的是, 这对于作为科学的后发国家的中国而言, 显得弥足珍贵。相较五四时期对科学的宣扬而言, 中国科学家在 20 世纪 60 年代对作为核心的科学精神的把握, 在胰岛素合成工作中得到了具体的呈现, 而且奠定和推动了有机所, 乃至中国科学的研究传统和风格。

### 3 发扬科学传统, 合成我们的未来

在中国科学家通过合成方法获得结晶牛胰岛素的过程中, 肽合成技术取得了突破性进展, 1963 年美国科学家梅里菲尔德 (R. B. Merrifield) 提出了固相多肽合成技术, 并在 1966 年利用该技术合成了牛胰岛素<sup>[15]</sup>, 这一突破性合成方法的发明较之经典的多肽合成方法, 不仅使得大多数肽的合成变成了可以通过自动合成仪器实现的“按部就班”的工作, 多肽合成的速度和质量也大为提高。仅就牛胰岛素的合成而言, 利用这种方法只需数天, 而且产率很高, 因而为生命科学提供了足量的用于研究的材料, 也为医药事业作出了巨大的贡献。在中国科学家合成胰岛素之后, 美国的实验室重复了他们的工作, 国际上在保护基的选择、产物的分离提纯以及固相和液相两种方法的结合应用上做了大量工作。此后, 有机合成化学家还利用该固相多肽合成技术对生理活性寡糖的模拟合成, 不仅能够验证天然存在寡糖—生物功能关系的重要结论, 而且能为进一步化学修饰, 合成自然界不存在但具有强大生理功能的产物创造条件, 且可以大量制备、产物结构可以根据需要任意设计, 因而对于研究寡糖结构—功能的关系是必不可少的方法。

从胰岛素的合成历程中, 我们看到, 合成化学为探索生命规律提供了重要的方法和物质基础。不仅如此, 随着合成科学的进展, 它在人类未来的发展中, 有着重要的意义。2001 年度诺贝尔化学奖得主野依良治指出: 化学是现代科学的中心, 而合成化学则是化学的中心<sup>[16]</sup>。另外, 有机所通过结晶牛胰岛素的合成等工作, 以后又参与进行了酵母丙氨酸转移核糖核酸的全合成, 奠定了以合成科学为特色的学科基础。

合成化学的主要任务是实现从小分子到大分子、从单分子基元到超分子体系的构筑, 实现化学、区域和立体选择性的控制, 同时创造出具有理想性质和功能的新物质。合成化学是多个基础和应用学科领域的基石, 与生命、健康、农业、材料和能源等领域密切关联。20 世纪合成化学的发展彻底改变了人类社会生产、生活方式, 这很大程度上归功于它强大的创造力, 因为通过化学合成不仅可以制造出自然界业已存在的物质, 还可以创造出具有理想性质和功能的、自然界中不存在的新物质。进入 21 世纪以来, 已有四次诺贝尔化学奖授予合成化学领域的科学家, 反映了这一领域的巨大创造力和活力, 以及合成化学对科学和人类社会的贡献。在分子水平上探讨生命现象, 弄清生物大分子的结构并对其进行有目的的操作是 21 世纪的化学家进行方法创新的新途径<sup>[17]</sup>。化学生物学这门研究生命过程中化学基础的科学的出现, 为使用小分子作为工具解决生物学的问题或通过干扰/调节生命过程而了解蛋白质的功能成为可能, 也为新世纪化学的发展特别是充分发挥合成化学的创造力提供了更为广阔的空间。

当我们今天回顾胰岛素全合成最初的目标时, 会认为合成胰岛素与合成生命之间的距离还很遥远。但合成科学的新进展, 以及新出现的合成生物学, 使得合成生命不再遥不可及。科学家利用化学小分子替代基因诱导细胞重编程以及第一个人造合成细胞问世, 其中的合成基因组有 582 970 bp<sup>[19]</sup>, 使得人类在未来很可能能够按照需要创造合成基因组, 进而合成生命。正因为此, 21 世纪的“合成化学”需要更高水平的科学创造力, 以探索其无限的可能性, 合成更美好的未来。未来的合成化学必须是经济的、安全的、环境友好的以及节省资源和能源的, 科学家需要为实现“完美的合成化学”而努力。一直以来, 上海有机化学研究所所以她卓越的合成科学在中国的科技进步、经济社会发展和国防建设中

发挥了不可替代的作用。“通过合成创造价值，用合成的分子影响和改变世界”是上海有机所追求合成科学卓越理念的具体描述。上海有机所正借中科院“率先行动”计划之战略机遇，聚焦“转化分子科学”，谋划新一轮的发展战略：围绕转化分子科学前沿的重大科学问题和国家重大需求，汇聚最具创新活力的合成化学人才，以化学键活化、断裂和重组的本质规律认识为基础，以分子转化的精准调控为突破口，以新物质创制和新过程发现为载体，做出原创性、变革性的科学成果，引领合成科学领域的发展，为中国经济社会的可持续发展和满足国家重大战略需求提供有力科技支撑，率先建成具有特色鲜明、国际一流的转化分子科学卓越中心。

#### [参 考 文 献]

- [1] Schreiber SL. Using the principles of ORGANIC CHEMISTRY to explore CELL BIOLOGY. *Chem Eng News*, 1992, 70(43): 22-32
- [2] Noyori R. Asymmetric catalysis: Science and opportunities (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Ed Engl*, 2002, 41: 2008-22
- [3] Knowles WS. Asymmetric hydrogenations (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Ed Engl*, 2002, 41: 1998-2007
- [4] Horst K. Emil Fischer - unequalled classicist, master of Organic Chemistry research, and inspired trailblazer of Biological Chemistry. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2002, 41: 4439-51
- [5] Du Vigneaud V. Trail of sulfur research: From insulin to oxytocin. *Science*, 1956, 123(3205): 967-74
- [6] Silverstein A. Frederick Sanger: The man who mapped out a chemical of life. *John Day*, 1969
- [7] 中国科学院上海有机化学研究所档案, 档号: D144-00361-001
- [8] 中国科学院上海有机化学研究所档案, 档号: D144-00363-008
- [9] 中国科学院上海有机化学研究所档案, 档号: D144-00363-003, D144-00361-002
- [10] 中国科学院上海有机化学研究所档案, 档号: D144-00363-006
- [11] 徐杰诚. 关于“结晶牛胰岛素合成”研究工作的几点体会. *院史资料与研究*, 2000, (5): 29-34
- [12] 中国科学院上海有机化学研究所档案, 档号: D144-00362-009
- [13] 中国科学院上海有机化学研究所档案, 国家鉴定书, 档号: D144-00362-002
- [14] 中国科学院上海有机化学研究所档案, 档号: D144-00362-008
- [15] Marglin B, Merrifield RB. The synthesis of bovine insulin by the solid phase method. *J Am Chem Soc*, 1966, 88 (21): 5051-2
- [16] Noyori R. Synthesizing our future. *Nat Chem*, 2009, 1: 5-6
- [17] 朱晶. 诺贝尔化学奖得主群体创新方法探析. *科学学研究*, 2014, 32(10): 1461-7, 1487
- [18] Ichida JK, Blanchard J, Lam K, et al. A small-molecule inhibitor of Tgf- $\beta$  signaling replaces Sox2 in reprogramming by inducing nanog. *Cell Stem Cell*, 2009, 5: 491-503
- [19] Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, et al. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*, 2010, 329(5987): 52-6