

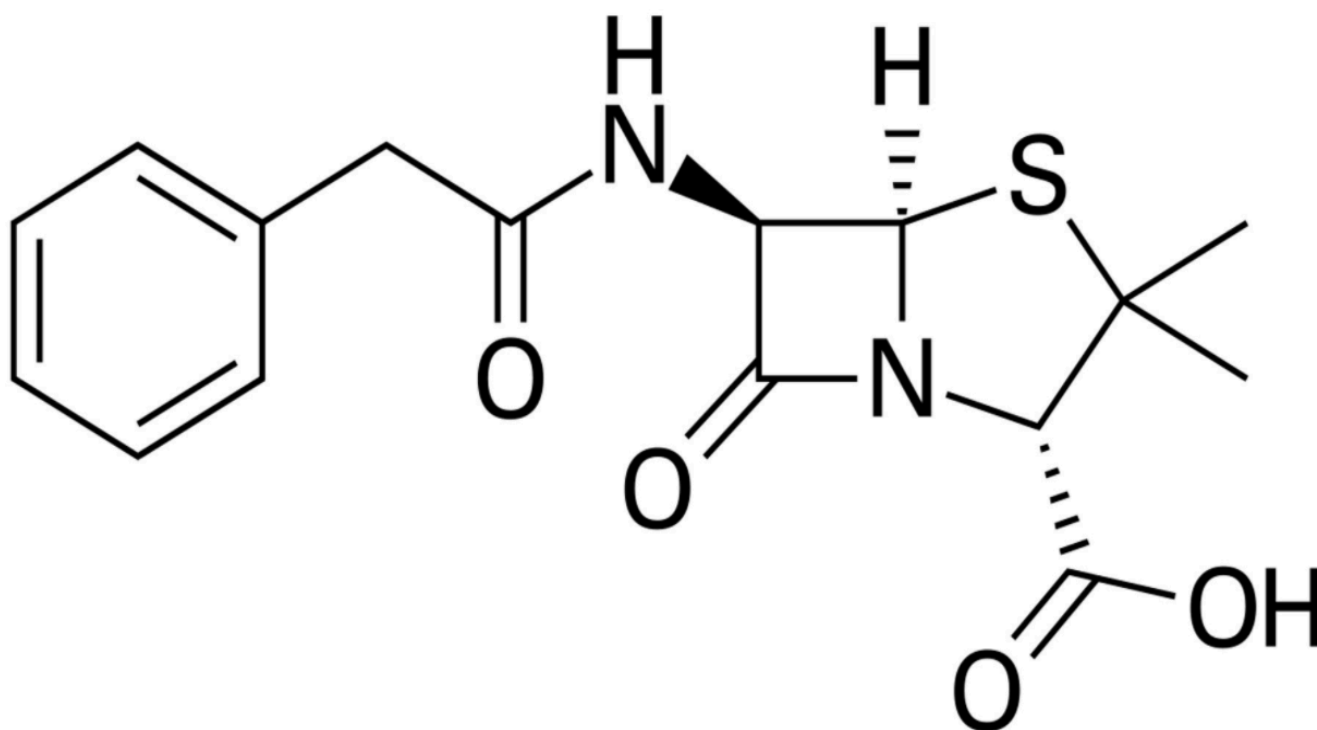
ΠΡΟΟΔΟΣ Α΄

Φασματοσκοπία Οργανικών Ενώσεων και Μοριακή Μοντελοποίηση

Δήμητρα Παύλου :1111201800108

Πενικιλίνη

(1)



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

Η ανακάλυψη και ανάπτυξη της πενικιλίνης αποτελεί ένα αξιοσημείωτο γεγονός για την ανθρωπότητα, αφού επίλυσε το φοβερό πρόβλημα των θανατηφόρων βακτηριακών μολύνσεων. Η ανακάλυψη της ήταν συνέπεια της εξώθησης ενός αντιβιοτικού ευρέος φάσματος από ένα συνηθισμένο δείγμα μούχλας, μετά από μια παρατήρηση που έκανε ο Alexander Fleming το 1928 . Παρά τη σημασία της και τις προσπάθειες πολλών χημικών, η συνολική σύνθεση της πενικιλίνης δεν θα επιτευχθεί μέχρι το 1957.

Ιστορία ανακάλυψης:

Η ιστορία ξεκίνησε όταν προσπάθησαν να κατανοήσουν την υποκείμενη αιτία της ασθένειας. Πριν από τα επιτεύγματα του Louis Pasteur η ασθένεια, ο θάνατος, και η αρρώστια ήταν συχνά αποδιδόμενες σε μεταφυσικές αιτίες. Πολλοί πίστευαν ότι η ασθένεια, ειδικά με την μορφή επιδημιών σήμαινε την οργή του Θεού, τιμωρώντας έτσι τον άνθρωπο για τις αμαρτίες του. Στη συνέχεια όμως με τα έργα του Pasteur και συγκεκριμένα με την θεωρία του 'germ theory of disease', όπου υποστήριξε ότι οι μολυσματικές ασθένειες προήλθαν από μικρόβια , η ιδέα της εκδίκησης του Θεού δεν είχε πλέον λογική.



Alexander Fleming in his laboratory

Εικόνα 1 Ο Alexander Fleming στο εργαστήριο του

Ξεκινώντας από τον Louis Pasteur...



Εικόνα 2 Ο Louis Pasteur

Ο Louis Pasteur σπούδασε χημεία στο Παρίσι όπου το 1848 συνέβαλε για πρώτη φορά στην πρόοδο της επιστήμης, σε ηλικία μόλις 26 ετών. Εξετάζοντας τους κρυστάλλους τρυγικού οξέος κάτω από ένα μικροσκόπιο παρατήρησε ότι υπήρχαν σε δύο ξεχωριστές μορφές που ήταν καθρέφτες ο ένας του άλλου. Διαχωρίζοντας τις στη συνέχεια ανακάλυψε ότι σε διάλυμα περιστρέφονταν το επίπεδο του πολωμένου φωτός σε αντίθετες κατευθύνσεις. Αυτή η ερευνά , αποτέλεσε την έναρξη του βασικού και θεμελιώδους πεδίου της στερεοχημείας. Το τρυγικό οξύ που μελέτησε ο Pasteur προήλθε από ίζημα κρασιού και το ενδιαφέρον του για την

επιστήμη της ζύμωσης οδήγησε σε πιο σημαντικές ανακαλύψεις.

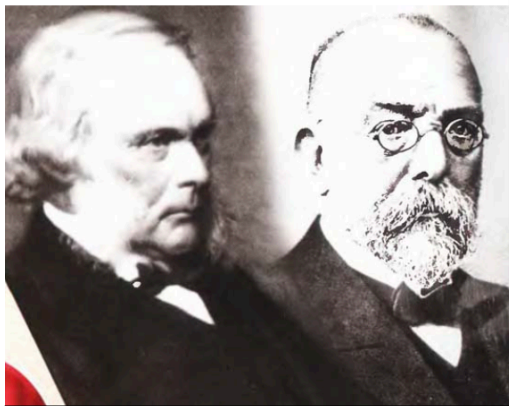
Το 1856, ο Pasteur έσπευσε να βοηθήσει την οικογένεια ενός μαθητή , οι οποίοι αντιμετώπιζαν προβλήματα στο εργοστάσιο ζύμωσης κρασιού. Μερικές φορές το αλκοόλ παραγόταν όπως ήταν αναμενόμενο αλλά, κάποιες παρτίδες έδιναν γαλακτικό οξύ. Εξετάζοντας τα μείγματα ζύμωσης με μικροσκόπιο παρατήρησε ότι κατά τη διάρκεια της κανονικής παραγωγής τα κύτταρα ζύμωσης ήταν διογκωμένα στην περίπτωση όμως που παραγόταν γαλακτικό οξύ, τα κύτταρα ήταν μικρότερα και συνοδεύονταν από μικρόβια που έμοιαζαν με ράβδους. Στη συνέχεια διαπίστωσε ότι η σύντομη θέρμανση του υγρού μέσου, θα σκότωνε τα ανεπιθύμητα μικρόβια πριν ξεκινήσει η ζύμωση και αυτό θα οδηγούσε σε παραγωγικές ζυμώσεις. Έτσι , ο Pasteur ήταν πλέον σε θέση να αποδείξει , κατασκευάζοντας μια έξυπνα σχεδιασμένη φιάλη με στόμιο σε σχήμα κύκνου (swan neck flask) που περιείχε διάλυμα που μπορεί να υποστεί ζύμωση , ότι μικρόβια όπως αυτά ήταν αερομεταφερόμενα

σωματίδια. Τα μικρόβια αυτά με παρατεταμένη θέρμανση μπορούσαν να διαφύγουν στην ατμόσφαιρα. Αυτή η διαδικασία αποστείρωσης, γνωστή ως παστερίωση, εξακολουθεί να χρησιμοποιείται από κοινού σήμερα, ιδιαίτερα στα γαλακτοκομικά προϊόντα.

Στη συνέχεια, κατάφερε να αντιμετωπίσει μια σοβαρή ασθένεια στους μεταξοσκώληκες, όπου αυτό είχε καταστροφικές οικονομικές επιπτώσεις στο ευρωπαϊκό εμπόριο μεταξίου. Απέδειξε ότι οι υγιείς μεταξοσκώληκες μπορούσαν να μολυνθούν από παθογόνους μικροοργανισμούς. Οι πρώιμες αυτές μελέτες οδήγησαν τον Pasteur να αναπτύξει την ιδέα του ότι τα μικρόβια εξαπλώνουν μεταδοτικές ασθένειες και ότι αυτά τα ξένα σωματίδια ήταν ζωντανοί μικροοργανισμοί. Συνεχίζοντας την έρευνα του και στηριζόμενος στην ανακάλυψη του εμβολιασμού από τον Edward Jenner ως προφύλαξη από ιογενείς μολύνσεις, όπως η λύσσα, καθώς και βακτηριακές λοιμώξεις του άνθρακα και της χολέρας, πέθανε γνωρίζοντας ότι είχε καταφέρει να κληροδοτήσει στη Γαλλία ίδρυμα για έρευνα, το Ινστιτούτο Pasteur στο Παρίσι. Στόχος του ήταν μέσω πειραματικής επιστήμης να εξαλείψει πληγές της ανθρωπότητας.

Ο Joseph Lister ως πατέρας της νεότερης χειρουργικής βασίστηκε στο έργο του Pasteur...

Ο Joseph Lister ένας νεαρός χειρουργός στο Ηνωμένο Βασίλειο, ενθουσιάστηκε από το έργο του Pasteur, προτρέποντάς τον να προτείνει μια σύνδεση μεταξύ σήψης και



Εικόνα 3 Ο Joseph Lister αριστερά και ο Robert Koch στα δεξιά. Ο Lister ήταν πρωτοπόρος στην αντισηψία ασθενούς

μικροβίων από τον αέρα. Η αναζήτηση του Lister για την αιτία της σήψης είχε αρχίσει επειδή προβληματίστηκε από τον ισχυρισμό που έγινε νωρίτερα από τον διάσημο χημικό Justus von Liebig ότι η σήψη ήταν ένα είδος καύσης-οξειδωσης που συνέβαινε κατά την εξάπλωση του αίματος (υγρού ιστού) του σώματος με οξυγόνο από τον αέρα.

Στον χειρουργικό θάλαμο του Lister στο Βασιλικό Ιατρείο της Γλασκώβης, η σήψη σκότωσε το 50% των ασθενών του, αυτό τον ενέπνευσε να προβεί σε κάποια λύση για αυτή τη φοβερή κατάσταση που επικρατούσε. Έπειτα από έρευνα είχε διαβάσει ότι το καρβολικό οξύ (λεγόμενη φαινόλη σήμερα) θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μέσο αποστείρωσης των χειρουργικών εργαλείων και

στον καθαρισμό των τραυμάτων. Έτσι ξεκίνησε να καθαρίζει πληγές και τραύματα με διάλυμα καρβολικού οξέος. Το 1867 ήταν σε θέση να ανακοινώσει στον Βρετανικό Ιατρικό Σύλλογο ότι ο θάλαμος του ήταν απαλλαγμένος από σήψη για μια εκπληκτική περίοδο εννέα μηνών λόγω της εφαρμογής αυτού του πρωτόκολλου, κατόρθωσε να μειώσει έτσι τις μετεγχειρητικές μολύνσεις, καθιστώντας τις εγχειρήσεις ασφαλέστερες για τους ασθενείς. Επίσης είχε πρωτοπορήσει στη χρήση αντισηπτικών λύσεων



Εικόνα 4 Ο Lister θεραπεύοντας την αντισηψία

και είχε μεταδώσει τη σημασία της υγιεινής στα χειρουργεία, σώζοντας έτσι αμέτρητους ασθενείς από έναν οδυνηρό θάνατο- γάγγραινας.

Η ανακάλυψη του Robert Koch για το βακτήριο που προκαλεί τις θανατηφόρες ασθένειες της χολέρας και της φυματίωσης

Ο Γερμανός γιατρός Robert Koch, κατά τη διάρκεια του γαλλοπρωσικού πολέμου τη δεκαετία του 1870, ήταν σε θέση να αποδείξει οριστικά ότι ο άνθρακας γένους bacillus προκαλεί άμεσα ασθένεια σε πειραματόζωα. Ανέπτυξε επίσης τεχνικές καλλιέργειας βακτηρίων, απεικονίζοντας έτσι τη φαινομενική ανθεκτικότητα αυτών των συγκεκριμένων βακτηρίων, αποδεικνύοντας παράλληλα ότι, ένα ζώο ξενιστής γενικά δεν ήταν απαραίτητο. Έτσι μελέτησε τις συνθήκες που απαιτούνται για τη βακτηριακή ανάπτυξη. Βασιζόμενος σ' αυτό ήταν σε θέση να εντοπίσει τόσο το βακτήριο *Vibrio cholerae* όσο και το *Mycobacterium tuberculosis* που προκαλούν τις θανατηφόρες ασθένειες της χολέρας και της φυματίωσης, αντίστοιχα. Το έργο αυτό του απέδωσε το Βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας ή Ιατρικής το 1905.

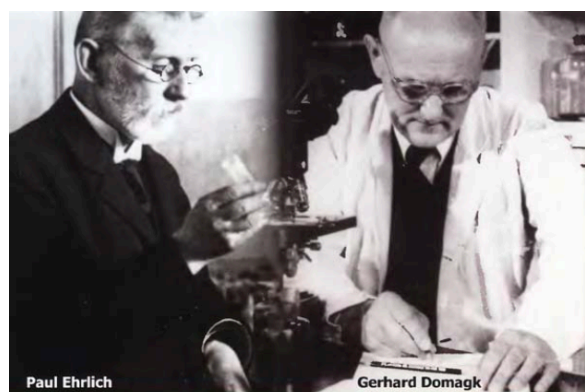
Ο εντοπισμός αυτών των παραγόντων που προκαλούν ασθένειες ήταν μια μακρά και επίπονη μάχη που απαιτούσε τη συμβολή πολλών διακεκριμένων επιστημόνων των οποίων το ευφυές έργο είχε ήδη φέρει επανάσταση στην ιατρική πρακτική, όπως προαναφέρθηκε. Κάθε ένας από αυτούς τους άφησε το δικό του ανεξίτηλο σημάδι στην ιστορία συμβάλλοντας στη διάσωση της ζωής του ανθρώπου, αλλά η ιστορία μας είναι μόλις στην αρχή της.

20^{ος} αιώνας και μολυσματικές ασθένειες

Στις αρχές του 20ου αιώνα το προσδόκιμο ζωής στην Αγγλία ήταν μόλις 45 χρόνια και η βρεφική θνησιμότητα ήταν σε ποσοστό εκατό πενήντα ανά χίλιες γεννήσεις. Πολλοί από τους πρόωρους θανάτους που συνέβαλαν σε αυτές τις αποτρόπαιες στατιστικές θα μπορούσαν να αποδοθούν σε θανατηφόρες βακτηριακές λοιμώξεις. Όταν όμως πολλά από τα βακτήρια ταυτοποιήθηκαν τρόποι αντιμετώπισης των οδών μετάδοσης ασθενειών και της χειρουργικής υγιεινής για την πρόληψη της μόλυνσης είχαν ανακαλυφθεί, ωστόσο δεν υπήρχε διαθέσιμη λύση στο πρόβλημα της επιτυχούς θεραπείας ενός ήδη μολυσμένου ασθενούς. Έτσι οι άνθρωποι είχαν ένα καλό λόγο να φοβούνται τις βακτηριακές λοιμώξεις, αφού συχνά αποτελούσαν αίτιο θανάτου.

Η συνεισφορά του Paul Ehrlich

Ο Paul Ehrlich, φίλος και συνάδελφος του Koch, πρότεινε ότι η βακτηριακή λοίμωξη μπορεί να είναι ιάσιμη με θεραπεία με ένα φάρμακο που ήταν τοξικό για τα βακτήρια, ενώ ήταν αβλαβής για τον ασθενή, εισάγοντας έτσι τη λεγόμενη έννοια της “μαγικής σφαίρας”- magic bullet. Εφηύρε την πρόδρομο τεχνική της χρώσεως κατά Γκραμ των βακτηρίων. Οι μέθοδοι που ανέπτυξε για τη χρώση του ιστού κατέστησαν δυνατή τη διάκριση μεταξύ των διαφορετικών τύπων



Εικόνα 5 Ο Paul Ehrlich και ο Gerhard Domagk

κυττάρων του αίματος, διευκολύνοντας τη διάγνωση πολλών ασθενειών του αίματος. Αυτός και ο Ιάπωνας συνάδελφός του, Kiyoski Shiga , διαπίστωσαν τελικά ότι το κόκκινο trypan (ένα αζώχρωμα) θα μπορούσε να σκοτώσει αποτελεσματικά τα βακτήρια *Trypanosoma gambiense* , που ήταν το αίτιο της θανατηφόρας ασθένειας ύπνου που μεταδίδεται από τη μύγα τσε-τσε στην Αφρική. Ωστόσο, σε δοκιμές σε ανθρώπους στην Ουγκάντα η χρήση του είχε ως αποτέλεσμα απaráδεκτες παρενέργειες που κυμαίνονταν από τύφλωση έως θάνατο. Στο εργαστήριό του ανακαλύφθηκε η σαλβαρσάνη και νεοσαλβαρσάνη η πρώτη αποτελεσματική φαρμακευτική θεραπεία για τη σύφιλη αιτία από *Treponema pallidum* λοίμωξη, εγκαινιάζοντας έτσι και την ονομασία της έννοιας της χημειοθεραπείας. Ο Ehrlich ήταν επίσης πρωτοπόρος στους τομείς της αιματολογίας και της ανοσολογίας με τις συνεισφορές του να αναγνωρίζονται από την απονομή του Βραβείου Νόμπελ Φυσιολογίας ή Ιατρικής του 1908 το οποίο μοιράστηκε με τον Ρώσο Ilya Ilyich Mechnikov, "σε αναγνώριση του έργου τους για την ανοσία".

Η συνεισφορά του Domagk έναντι του αιμολυτικού στρεπτόκοκκου

Το 1928, ο Gerhard Domagk , ενώ συνέχισε τις έρευνες στο ίδιο πνεύμα στα εργαστήρια I.G Farbenindustrie, επικεντρώθηκε κυρίως στην εξεύρεση παραγόντων αποτελεσματικών έναντι των αιμολυτικών στρεπτόκοκκων (τα βακτήρια που σχετίζονται με λοιμώξεις του λαιμού). Συνέστησε *prontosil rubrum* , ένα κόκκινο αζώχρωμα (red azo dye), για κλινικές δοκιμές γιατί αυτή η ένωση περιέχει την κρίσιμη λειτουργικότητα σουλφοναμιδίου και αποδείχθηκε πολύ αποτελεσματική κατά αυτών των βακτηρίων. Η ανακάλυψη των αντιβακτηριακών επιδράσεων του *prontosil* κέρδισε το βραβείο Νόμπελ στη φυσιολογία ή την ιατρική το 1939. Ο πραγματικός θρίαμβός του, εντούτοις, ήταν πολύ πιο προσωπικός, δεδομένου ότι ο Domagk το είχε χρησιμοποιήσει επιτυχώς για να θεραπεύσει τη κόρη του (βρέφος) η οποία πέθαινε από σταφυλοκοκκική λοίμωξη, πολύ πριν το φάρμακο γίνει διαθέσιμο στο κοινό. Με την πάροδο του χρόνου έγιναν αντιληπτές ορισμένες ελλείψεις που εμφάνισε το *prontosil*. Αν και εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται σε σπάνιες περιπτώσεις σήμερα, αυτά τα αντιβακτηριακά είναι πολύ στενά σε φάσμα και ουσιαστικά ξεπερασμένα.

Η ανακάλυψη της πενικιλίνης από τον Fleming

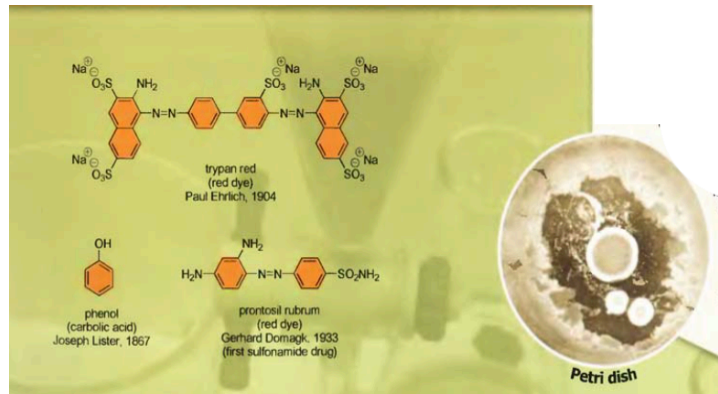
Ο Sir Alexander Fleming ένας Σκωτσέζος, του οποίου ολόκληρη η καριέρα βασίστηκε σε μια σειρά από περιπετειώδη γεγονότα πολέμησε στον πόλεμο των Μπόερ με δύο από τα αδέρφια του ενώ επιστρέφοντας στο Λονδίνο και έχοντας ανάγκη από ένα επάγγελμα αποφασίζει να ακολουθήσει τον μεγαλύτερο αδελφό του στην ιατρική. Έλαβε κορυφαίες βαθμολογίες στις προκριματικές εξετάσεις, δίνοντάς του την επιλογή από το σχολείο να επιλέξει για τις σπουδές του. Επέλεξε έτσι να εγγραφεί στο St.Mary's όπου και έγινε ο πιο διάσημος βακτηριολόγος στον κόσμο .



Sir Alexander Fleming

Εικόνα 6 Ο Alexander Fleming

Στη δεκαετία του 1920, ο Φλέμινγκ αναγνώρισε το λυσοζύμη, ένα ένζυμο που βρέθηκε στα δάκρυα, το οποίο παρουσίασε μια φυσική και ήπια αντιβακτηριακή δράση. Αυτή η πρωτεΐνη ήταν το πρώτο αντιβιοτικό που απομονώθηκε από το ανθρώπινο σώμα, αλλά καθώς δεν ήταν αρκετά ισχυρό για να επιτεθεί στις πιο διαδεδομένες και επιθετικές λοιμώξεις, ο Φλέμινγκ συνέχισε την αναζήτησή του. Μια μέρα, καθώς καθάριζε τρυβλία Petri που περιείχαν βακτηριακές καλλιέργειες που είχαν αρχίσει να συσσωρεύονται σε έναν από τους νεροχύτες του, παρατήρησε ότι ένα από τα δοχεία είχε μούχλα στο θρεπτικό άγαρ. Γύρω από το περίγραμμα της μούχλας (*Penicillium notatum*) ο Fleming παρατήρησε πως υπήρχε μια καθαρή περιοχή, στην οποία η ανάπτυξη βακτηριακής αποικίας είχε ανασταλεί και αυτά είχαν εξαφανισθεί. Το γεγονός αυτό τον οδήγησε στο συμπέρασμα ότι ο μύκητας απελευθερώνει μία ή περισσότερες ουσίες που καταστέλλουν την ανάπτυξη των παθογόνων βακτηρίων τα οδηγούν σε κυτταρική λύση και τα θανατώνουν. Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να σημειωθεί ότι η πλήρης λεπτομερής ιστορία της ανακάλυψης της πενικιλίνης, έχει τις ρίζες πολύ πριν τις έρευνες του Φλέμινγκ.



Εικόνα 7 Απεικόνιση αντιβακτηριακών παραγόντων πριν την ανακάλυψη της πενικιλίνης και το τρυβλίο Petri

Τόσο ο Joseph Lister όσο και ο Ernest Duchesne (Γάλλος φοιτητής ιατρικής) ανέφεραν ανεξάρτητα τη χρήση μούχλας Πενικιλίου για εξωτερική χρήση(δερματικά) στη θεραπεία μολυσμένων ασθενών στα τέλη του 19ου αιώνα. Η πρακτική αυτή αγνοήθηκε από τις



Εικόνα 8 Ο Alexander Fleming και η ομάδα πενικιλίνης της Οξφόρδης Fleming, Chain, Sanders, Abraham (από αριστερά στα δεξιά)

επιστημονικές και ιατρικές κοινότητες λόγω της χαμηλής δραστηριότητάς τους δερματικά μέχρι που ο Φλέμινγκ αναζωπύρωσε το ενδιαφέρον για αυτές. Στις αρχές της δεκαετίας του 1930, ο Φλέμινγκ μεταβίβασε μέρος της ερευνάς του στον Howard W. Florey και τον Ernst B. Chain στο Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης. Η ομάδα της Οξφόρδης, η οποία περιλαμβάνει επίσης τους Norman G. Heatley και Edward P. Abraham βελτίωσε την ανάπτυξη και την απομόνωση των εκχυλισμάτων πενικιλίνης αρκετά ώστε να διευκολύνει την έναρξη κλινικών δοκιμών οι οποίες άρχισαν αμέσως να αποδίδουν πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα με την ενδοφλέβια χορήγηση της πενικιλίνης η οποία ήταν

αποδοτικότερη ως προς την αντιβιοτική της δράση. Ωστόσο, η καθαρή πενικιλίνη ήταν ακόμα σε τόσο μικρή ποσότητα που έπρεπε να ανακτηθεί από τα ούρα των ασθενών για

επαναχρησιμοποίηση. Η θεαματική επιτυχία της πενικιλίνης ως αντιβιοτικό θα κερδίσει αργότερα Fleming , Chain και Florey το 1945 Βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας στην Ιατρική .

Η απροσδόκητη ανακάλυψη του στελέχους *Penicillium chrysogenum*

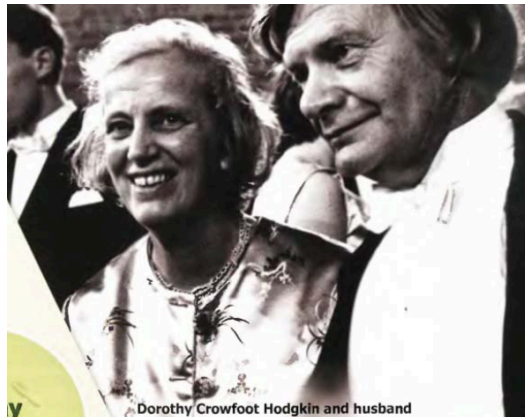
Με το ξέσπασμα του Β ' Παγκοσμίου Πολέμου, το ενδιαφέρον για μεγάλη παραγωγή πενικιλίνης είχε αυξηθεί εξαιτίας της επείγουσας ανάγκης για τη θεραπεία των πληγέντων στρατιωτών. Αυτό οδήγησε τους επιστήμονες να προβούν σε ένα αγγλοαμερικανικό συνεργατικό έργο για την αυξημένη παραγωγή πενικιλίνης. Το Ίδρυμα Rockefeller στη Νέα Υόρκη κανόνισε να έρθουν στην Αμερική οι Florey και Heatley το 1941 για να συναντηθούν με τον Charles Thom επικεφαλής μυκητολόγο στο Υπουργείο Γεωργίας των ΗΠΑ. Διατυπώθηκε αμέσως μια διττή στρατηγική για την προμήθεια και την ανάπτυξη της πενικιλίνης. Η πρώτη προσέγγιση κατευθύνθηκε προς τη διασαφήνιση της δομής της πενικιλίνης, η οποία θα καθιστούσε τον τελικό στόχο της χημικής σύνθεσής της τουλάχιστον κατανοητό. Πάνω από σαράντα ανεξάρτητα εργαστήρια και εκατοντάδες χημικοί ενεπλάκησαν. Η δεύτερη γραμμή επίθεσης κατευθύνθηκε προς την περαιτέρω βελτίωση της διαδικασίας ζύμωσης για την παραγωγή του φαρμάκου. Σε αυτό το έργο, η πρόοδος ενισχύθηκε ακόμη και από τους κατοίκους της περιοχής που έφεραν μουχλιασμένα οικιακά αντικείμενα στα εργαστήρια για διερεύνηση στην αναζήτηση πιο παραγωγικών στελεχών πενικιλίου. Έτσι, μια πολύ βελτιωμένη απόδοση πενικιλίνης εξασφαλίστηκε τη δεκαετία του 1940 από το *Penicillium chrysogenum* μια ανακάλυψη που έγινε με την προσφορά ενός μουχλιασμένου πεπονιού που έφερε στο εργαστήριο η Mary Hunt από την Ρεορία. Οι φαρμακευτικές εταιρείες της Merck, της Pfizer, της Squibb και της Abbott συμμετείχαν όλες, μαζί με κορυφαία βρετανικά και αμερικανικά ακαδημαϊκά και κυβερνητικά ιδρύματα.

Η παραγωγή του φαρμάκου

Ο στρατηγός Dwight D. Eisenhower ξεκίνησε την έρευνα στην Ευρώπη με την υποστήριξη περίπου τριών εκατομμυρίων δόσεων πενικιλίνης (300 δισεκατομμύρια μονάδες) το πιο κερδοφόρο προϊόν στην ιστορία. Σε λιγότερο από τέσσερα χρόνια, οι επιστήμονες είχαν περάσει από την ανάκτηση της πενικιλίνης από τα ούρα των ασθενών λόγω της μικρής προσφοράς της σε έναν εξαιρετικά μεγάλο επίπεδο παραγωγής από το οποίο παρήχθησαν 1.633 δισεκατομμύρια μονάδες πενικιλίνης μόνο το 1944 . Συνολικά, αυτό το εγχείρημα κατάφερε αξιοθαύμαστα να βελτιστοποιήσει τα πρωτόκολλα ζύμωσης και παραγωγής, επιτρέποντας την επιτυχή και πρακτική προμήθεια του νέου θαυματουργού φαρμάκου, σώζοντας τελικά αμέτρητες ζωές. Η διαδικασία ωστόσο, εξακολουθούσε να βασίζεται στη φυσική βιοσύνθεση του άθικτου μορίου πενικιλίνης γεγονός που περιόρισε τις έρευνες για την παραγωγή αναλόγων με βελτιωμένη δραστηριότητα , ειδικά για την καταπολέμηση του νέου ανθεκτικού στελέχους βακτηριακής αντίστασης που άρχισε να παρατηρείται. Οι νέες αυτές συνθήκες κατέστησαν αναγκαία την εύρεση νέας χημικής σύνθεσης της πενικιλίνης.

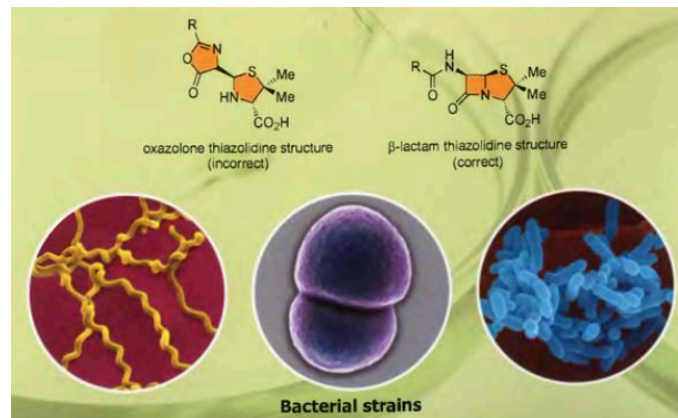
Σύνθεση του μορίου της πενικιλίνης

Η σύγκλιση των απόψεων πολλών χημικών της εποχής οδήγησε σε δύο πιθανές υποψήφιες μοριακές δομές της πενικιλίνης στις αρχές της δεκαετίας του 1940. Η λεγόμενη φόρμουλα οξαζολόνης-θειαζολιδίνης προτάθηκε από τον Sir Robert Robinson (Βραβείο Νόμπελ Χημείας, 1947) και υπερασπίστηκε έντονα από αυτόν καθώς και από μια σειρά καταξιωμένων χημικών όπως ο Sir John Cornforth (Βραβείο Νόμπελ Χημείας, 1975). Ο ανταγωνιστής β-λακτάμη υποστηρίχθηκε από τους επιστήμονες της Merck και από τον άξονα της Οξφόρδης του Abraham και Chain . Παρά τα



Εικόνα 10 Η Dorothy Crowfoot Hodgkin και ο σύζυγός της πενικιλίνης

από την κρυσταλλογραφική ανάλυση του Hodgkin αποδείχθηκε επίσης ότι ήταν το μοτίβο που ήταν υπεύθυνο για τη θανατηφόρα δράση του φαρμάκου κατά των βακτηρίων. Αυτή η δραστηριότητα διαπιστώθηκε ότι σχετίζεται με τη διαμόρφωση που υιοθετήθηκε από την πενικιλίνη , όπου η σύντηξη 4,5- δακτυλικού συστήματος επιβάλλει μια ορθογώνια ευθυγράμμιση του μονήρες ζεύγους αζώτου και του καρβονυλίου του π-δεσμού έτσι ώστε που η σταθεροποίηση μέσω συντονισμού από τα αμίδια να μην μπορεί να επιτευχθεί σε αυτή την περίπτωση. Αυτό το χαρακτηριστικό, σε συνδυασμό με το εγγενές στέλεχος του τετραμελούς δακτυλίου δημιουργεί μια κατάσταση όπου η λειτουργικότητα καρβονυλίου του δακτυλίου β-λακτάμης δρα ως εξαιρετικά αποτελεσματικός παράγοντας ακυλίωσης λόγω της ιδιαίτερα ισχυρής ηλεκτρονιόφιλης δραστηριότητάς του. Έτσι, είναι πλέον γνωστό ότι η πενικιλίνη αμετάκλητα ακυλιώνει το βακτηριακό ένζυμο τρανσπεπτιδάσης που είναι υπεύθυνο για τη διασταυρούμενη αντίδραση που ενώνει το τελικό άκρο γλυκίνης ενός σκέλους πενταγλυκίνης με το άκρο D-αλανίνης ενός γειτονικού πενταπεπτιδίου, σε ένα απαραίτητο βήμα για τη κατασκευή βακτηριακών κυτταρικών τοιχωμάτων. Η διαδικασία ακυλίωσης απενεργοποιεί αυτό το ένζυμο της διασταυρούμενης αντίδρασης θέτοντας έτσι σε κίνδυνο την ακεραιότητα του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος, με αποτέλεσμα τον γρήγορο κυτταρικό θάνατο. Σε αντίθεση με τα βακτήρια, μόνο μια μεμβράνη φωσφολιπιδίων



Εικόνα 9 Απεικόνιση κάποιων αμφισβητούμενων δομών πενικιλίνης και βακτηριακά στελέχη

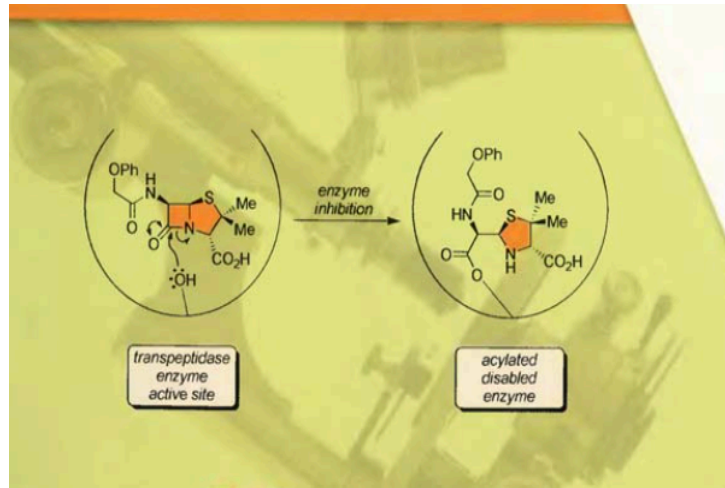
πειραματικά στοιχεία για την ύπαρξη ενός δομικού μοτίβου β-λακτάμης που παρέχεται από τους επιστήμονες της Merck η λογική δεν θα μπορούσε να δεχτεί την παρουσία ενός τόσο δραστικού στοιχείου μέσα σε μια φυσική ουσία. Μετά το λαμπρό κρυσταλλογραφικό έργο της Dorothy Crowfoot Hodgkin η διαφορά διευθετήθηκε , τελικά υπέρ της δομής β-λακτάμης το 1945.

Ο εντυπωσιακός τετραμελής β-λακταμικός δακτύλιος της πενικιλίνης η οποία αποκαλύφθηκε

περιβάλλει τα κύτταρα των θηλαστικών οπότε η αναστολή της τρανσπεπτιδάσης είναι απολύτως επιλεκτική για τα βακτηριακά κύτταρα. Έχει αποδειχθεί ότι το μόριο πενικιλίνης υιοθετεί μια συνολική διαμόρφωση που είναι πολύ παρόμοια με το κατάλοιπο D-αλανίνης-D-αλανίνης του υποστρώματος που εμπλέκεται σε αυτή την διαδικασία επιμήκυνσης της αλυσίδας, έτσι αποκτά άμεση πρόσβαση στην ενεργό θέση του ενζύμου όπου αντιδρά για να απενεργοποιήσει τον ξενιστή του.

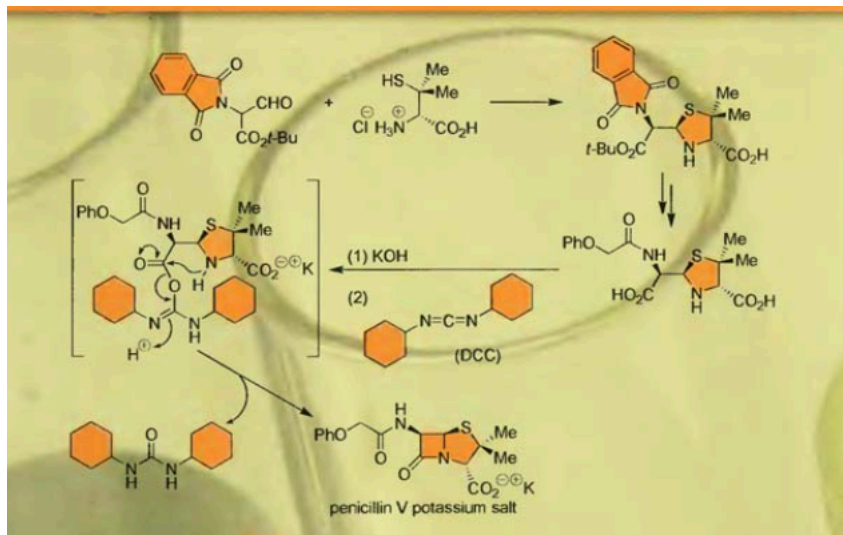
Στη συνέχεια αντιλήφθηκαν ότι ενώ η βιολογική δραστηριότητα της πενικιλίνης βασίζεται στη χαρακτηριστική ικανότητα του β-δακτυλίου λακτάμης το ίδιο χαρακτηριστικό που οδήγησε τους περισσότερους συνθετικούς οργανικούς χημικούς της περιόδου του πολέμου να θεωρήσουν την πενικιλίνη αδύνατο στόχο να κατακτήσουν με χημική σύνθεση. Πράγματι, παρά την τεράστια προσπάθεια που κατευθύνθηκε προς τη σύνθεσή της, τόσο κατά τη διάρκεια όσο και μετά τον Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο, δεν αναφέρθηκε καμία επιτυχία μέχρι πολύ αργότερα. Το 1957 ο John C. Sheehan στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας της Μασαχουσέτης (ΗΠΑ) ήταν σε θέση να ανακοινώσει τη συνολική σύνθεση της πενικιλίνης V.

Η περίφημη επιτυχία του Sheehan οφειλόταν στην καινοτόμο και τολμηρή προσέγγισή του. Είχε αναγνωρίσει πολύ νωρίς ότι το κύριο εμπόδιο που πρέπει να ξεπεραστεί πριν από οποιαδήποτε συνολική σύνθεση πενικιλίνης ήταν η κατασκευή του εξαιρετικά τεταμένου και ευαίσθητου β-δακτυλίου λακτάμης. Επιπλέον, ήταν σαφές σε αυτόν ότι έπρεπε να αναπτυχθεί μια κατάλληλη μέθοδος για την επίτευξη αυτού του δακτυλίου, δεδομένου ότι καμία από τις υπάρχουσες τεχνολογίες δεν θα μπορούσε να αντιμετωπίσει την πρόκληση. Συνέλαβε και ανέπτυξε το N,N'-δικυκλοεξυλοκαρβοδιμίδιο (DCC) - με τη μεσολάβηση σύζευξης καρβοξυλικών οξέων με αμίνες για την παροχή αμιδίων. Εφαρμοσμένη στην ενδομοριακή της έκδοση (όπου η αμίνη και το οξύ ανήκουν και τα δύο στο ίδιο μόριο) σε έναν κατάλληλα λειτουργικό πρόδρομο, αυτή η μέθοδος θα έλυσε ένα από τα προβλήματα στη χημική σύνθεση της δεκαετίας του 1940 και του 1950 - τη κατασκευή του β-λακταμικού δακτυλίου της πενικιλίνης. Η αντίδραση σύζευξης DCC, που αργότερα επεκτάθηκε για να παρέχει μια λύση για τον σχηματισμό δεσμών εστέρα, παραμένει ένα ισχυρό συνθετικό εργαλείο στη σύγχρονη οργανική σύνθεση και υπήρξε η έμπνευση για πολλές παρόμοιες αντιδράσεις.



Εικόνα 11 Ο μηχανισμός δράσης της πενικιλίνης

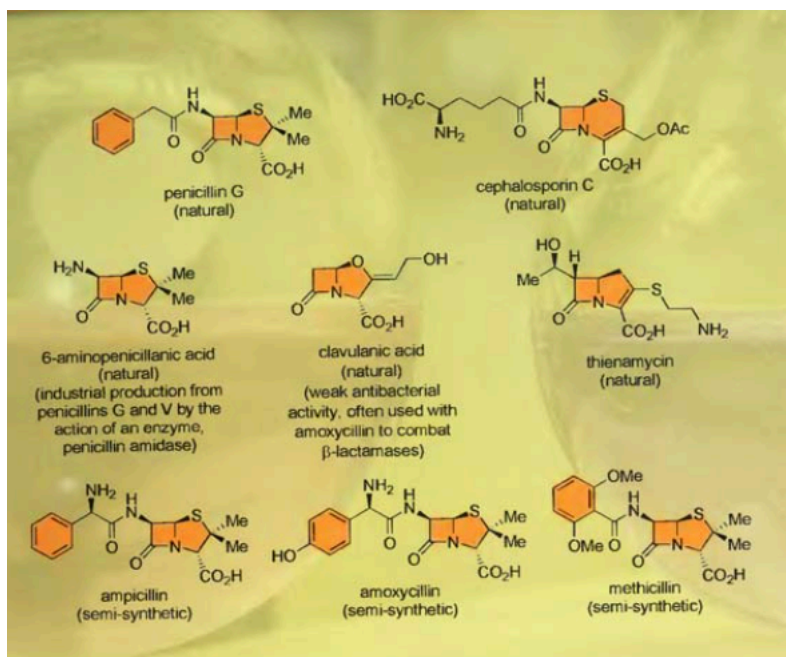
Με αυτές τις δύο καινοτομίες στη διάθεσή τους, η ομάδα του Sheehan ήταν σε θέση να ολοκληρώσει τη σύνθεση αυτού του προηγουμένως αδύνατου στόχου μέσω της ακολουθίας που περιγράφεται στο πλαίσιο της εικόνας. Έτσι, η σύζευξη μιας αμινοαλδεύδης που προστατεύεται από φθαλοϋλικό με κατάλληλη αμινοθειόλη



Εικόνα 12 Η συνολική σύνθεση της V πενικιλίνης

οδήγησε στη κατασκευή του δακτυλίου θειαζολιδίνης της πενικιλίνης. Περαιτέρω επεξεργασία οδήγησε σε ένα προηγμένο ενδιάμεσο αμινοξέος που χρησίμευσε ως πρόδρομο για τον δακτύλιο β-λακτάμης της πενικιλίνης V. Πράγματι, η έκθεση αυτού του πρόδρομου στις συνθήκες σύζευξης DCC του Sheehan παρείχε πενικιλίνη V ως άλας καλίου. Έτσι ολοκληρώθηκε η πρώτη συνολική σύνθεση της πενικιλίνης ένα καθοριστικό γεγονός στην ιστορία της τέχνης της συνολικής σύνθεσης. Αυτό το κατόρθωμα σηματοδότησε όχι μόνο την αρχή μιας εξαιρετικά παραγωγικής εποχής στη σύνθεση των παραγώγων β-λακτάμης, πολλά από αυτά στη συνέχεια συντέθηκαν, αλλά αντιπροσώπευαν την προσθήκη μιας νέας διάστασης στις συνολικές προσπάθειες σύνθεσης.

Μια νέα εποχή ξεκινά....



Εικόνα 13 Διαφορετικές μορφές αντιβιοτικών β-λακτάμης

Η πενικιλίνη οδήγησε σε μια νέα εποχή στην έρευνα για τα αντιβιοτικά. Μια σειρά από νέες φυσικές β-λακτάμες όπως η κεφαλοσπορίνη C και το κλαβουλανικό οξύ χρησιμοποιήθηκαν ως φάρμακα. Μόλις αυτές οι ανακαλύψεις έγιναν σε μικροβιολογικά εργαστήρια, οι χημικοί επικεντρώθηκαν στη σύνθεση των πρόσφατα ανακαλυφθέντων φυσικών προϊόντων και στην τροποποίηση των δομών τους σε μια προσπάθεια να ανακαλύψουν νέους αντιβακτηριακούς παράγοντες

με βελτιωμένα φαρμακολογικά προφίλ . Το έργο τους οδήγησε σε μια εξίσου εντυπωσιακή συλλογή συνθετικών ή ημισυνθετικών αντιβιοτικών β-λακτάμης συμπεριλαμβανομένης της αμπικιλίνης, της αμοξυκιλλίνης και της μεθικιλίνης. Κατά τη διάρκεια αυτής της χρυσής εποχής των αντιβιοτικών, ωστόσο, ήρθαν κάποια ανησυχητικά νέα. Η ευρεία χρήση τους, και μερικές φορές η κακή χρήση οδήγησε στην ταχεία εξέλιξη και εξάπλωση βακτηριακών στελεχών ανθεκτικών στα αντιβιοτικά . Μια νέα απειλή για την ανθρωπότητα ήταν τώρα στον ορίζοντα!

Τα βακτηριακά στελέχη έχουν αναπτύξει την ικανότητα να αποφεύγουν τη δράση των αντιβιοτικών β-λακτάμης παράγοντας ένα ένζυμο που ονομάζεται β-λακταμάση το οποίο μπορεί να διασπάσει τον β-δακτύλιο λακτάμης , απενεργοποιώντας έτσι τα μόρια πριν φτάσουν στο σημείο δράσης τους. Για την καταπολέμηση αυτών των νεοαποκτηθέντων εχθρών οι επιστήμονες έχουν έκτοτε αναζητήσει και αναπτύξει διάφορους νέους αντιβακτηριακούς παράγοντες . Μερικά από αυτά τα ισχυρά νέα αντιβιοτικά προήλθαν από τη φύση και μερικά προέκυψαν εντελώς τεχνητά . Η ιστορία των ανθεκτικών στα φάρμακα βακτηρίων και των αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται για την προστασία μας έναντι αυτών, περιλαμβάνει τη βανκομυκίνη ένα φυσικό προϊόν που είναι σήμερα το σωτήριο φάρμακο έσχατης ανάγκης σε περιπτώσεις σοβαρής μόλυνσης.

Τέλος, εστιάζουμε στην τεράστια σημασία της ανακάλυψης της πενικιλίνης αφού η ανακάλυψή της αποτέλεσε ένα σημαντικό ιατρικό γεγονός που έσωσε πολλές ανθρώπινες ζωές από θανατηφόρες ασθένειες .

Βιβλιογραφία

K. C. Nicolaou, Tamsyn Montagnon, Molecules That Changed the World, Wiley 2008

(1) <http://votaniki.gr/events/gennithike-san-simera-to-1881-o-vraveymenos-me-nompel-flemingk-poy-anakalypse-tin-penikilini/>