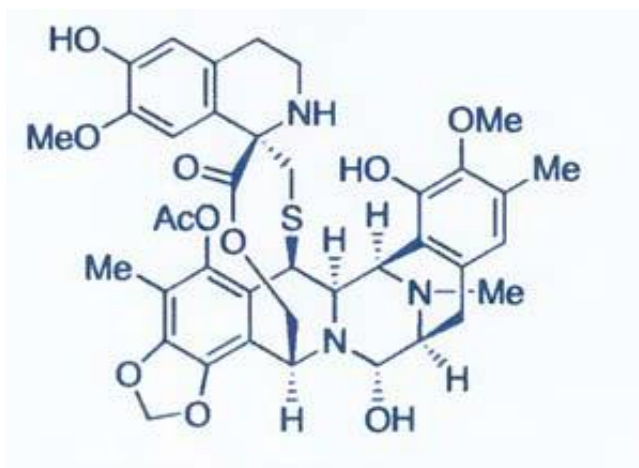


ΕΚΤΕΙΝΑΣΚΙΔΙΝΗ 743 (Ecteinascidin 743)

Ένα αντικαρκινικό φάρμακο χωμένο στο βάθος της θάλασσας



Η δομή της Εκτεϊναςκιδίνης 743

χημειοθεραπείες για τη θεραπεία του σαρκώματος των μαλακών ιστών και του καρκίνου των ωθηκών^[2]. Η ιστορία της, ξεκινάει το 1969, όταν ένα μίγμα ουσιών απομονώθηκε από ένα τέτοιο υδρόβιο οργανισμό, ένα χιτωνοφόρο, που συλλέχθηκε κατά τη διάρκεια μιας καταδυτικής αποστολής με επιστημονικό σκοπό στην Καραϊβική Θάλασσα.

Τα χιτωνοφόρα (ή ουροχορδωτά) ασκίδια έχουν σώμα που μοιάζει με σάκο, στο οποίο εισέρχεται το νερό με σκοπό να απορροφηθούν οι θρεπτικοί μικροοργανισμοί. Το νερό στη συνέχεια εκτινάσσεται, εξ ου και το αγγλικό τους όνομα, sea squirts (squirt=εκτινάσσομαι, ξεπηδώ). Τα ασκίδια αποτελούνται από μία πληθώρα οργάνων, συμπεριλαμβανομένου και ενός κυκλοφορικού συστήματος που αντλείται από μία καρδιά, η οποία, περιέργως μπορεί να αλλάξει την πορεία της άντλησης υγρού. Το εκχύλισμα που απομονώθηκε μετά από διαβροχή όλου του σώματος του ασκιδίου *Ecteinascidia turbinata*, προωθήθηκε στο επιστημονικό φως της δημοσιότητας, διότι παρουσίαζε την εξαιρετική ικανότητα θανάτωσης των λευχαιμικών κυττάρων P388 των τρωκτικών. Αυτή η κατηγορία καρκινικών κυττάρων έχει φτιαχτεί ειδικά και μπορεί

Οι ωκεανοί και οι θάλασσες, ιδιαίτερα τα ρηχά ζεστά νερά των τροπικών περιοχών αποτελούν την κατοικία πολλών περιέργων αλλά και αξιοθαύμαστων ασπόνδυλων ζώων, όπως τα μαλακά κοράλλια, τα σφουγγάρια, οι αστερίες και οι θαλάσσιες ανεμόνες.

Η τραβεκτεδίνη ή εκτεϊναςκιδίνη 743 ή Et743 (για συντομία) σήμερα είναι γνωστή ως αντικαρκινικό φάρμακο που χρησιμοποιείται στις



Το χιτωνοφόρο *Ecteinascidia turbinata* στην Καραϊβική θάλασσα, από το οποίο πήρε το όνομα η ουσία εκτεϊναςκιδίνη 743.

να καλλιεργηθεί σε εργαστήριο, με σκοπό τον έλεγχο της αντικαρκινικής δράσης νέων ουσιών. Συνήθως, το επόμενο βήμα σε μια τέτοια διαδικασία θα ήταν ο διαχωρισμός του μίγματος στα συστατικά του και η ανάλυση και ταυτοποίηση του καθενός από αυτά καθώς και των ιδιοτήτων του. Η διαδικασία θα συνέχιζε με μία ενδεδειγμένη έρευνα για τα συστατικά που φαίνονταν ως τα βιολογικά πιο υποσχόμενα.



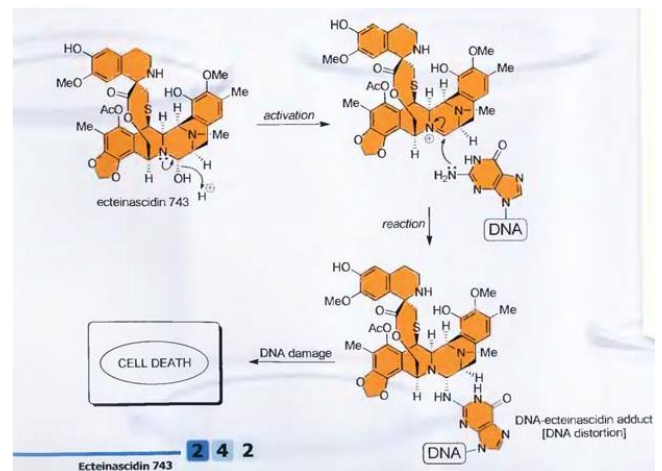
Ο Kenneth L. Rinehart που αποκρυπτογράφησε τη μυστηριώδη ουσία

Σε αυτή την περίπτωση όμως, μια τέτοια προσπάθεια ήταν αδύνατη λόγω της αστάθειας των συστατικών. Ανεξάρτητα από τον κόπο που έκαναν οι επιστήμονες, σχεδόν κάθε προσπάθεια καθαρισμού του εκχυλισμένου μίγματος οδήγησε σε αποσύνθεση των συστατικών στοιχείων. Κατά τη διάρκεια αυτής της δύσκολης περιόδου, αυτό το συνονθύλευμα ουσιών συνέχισε να ταλανίζει τους επιστήμονες εξαιτίας του γεγονότος ότι ήταν το πιο δραστικό θαλάσσιο φυσικό προϊόν που εξετάστηκε από το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου

(ΗΠΑ) μέχρι το 1980. Η ανάπτυξη ενός αριθμού νέων χρωματογραφικών τεχνικών επέτρεψε την αποσύνθεση του μίγματος στα συστατικά του το 1986 από τον Kenneth L. Rinehart και τους συνεργάτες του στο Πανεπιστήμιο του Ιλινόις (ΗΠΑ).

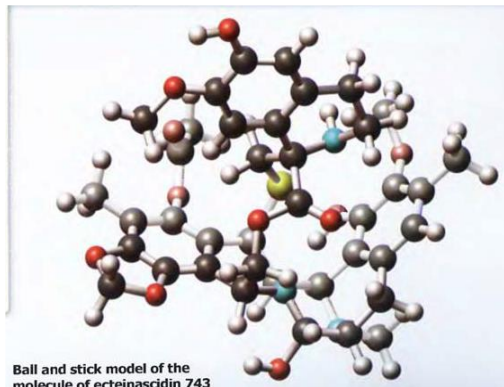
Με τα καθαρά υλικά πλέον διαθέσιμα ολοκληρώθηκε και η αποσαφήνιση των δομών, λίγο αργότερα (1990), φανερώνοντας τις πολύπλοκες μοριακές αρχιτεκτονικές ορισμένων εκτεινασκιδινών. Το πιο πολυπληθές μέλος αυτής της νέας τάξης φυσικών προϊόντων ήταν η Et743 και οι ειδικοί ανυπομονούσαν να καταλάβουν την πηγή της εκπληκτικής της βιολογικής δραστηριότητας, όντας πεπεισμένοι για την καινοτομία αυτή.

Σύντομα οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι η Et743 προσδένεται ισχυρά στη μικρή αύλακα της διπλής έλικας του DNA, δείχνοντας μια προτίμηση για συγκεκριμένη ακολουθία βάσεων (γουανίνη - κυτοσίνη). Μόλις προσδεθεί το μόριο της Et743, αντιδρά χημικά με το DNA, σχηματίζοντας ομοιοπολικό δεσμό με μία γειτονική λειτουργική ομάδα του DNA και η Et743 μετατρέπεται σε ένα ισχυρά δραστικό χημικό είδος. Έχει προταθεί ότι η ένωση προσθήκης DNA-Et743 απορροφά οξυγόνο από το περιβάλλον της σχηματίζοντας μία δραστική υδροξυλική ρίζα. Αυτή η ρίζα στη συνέχεια κόβει τον σκελετό του κλώνου DNA τοπικά. Ο μηχανισμός αυτός θεωρείται ότι είναι ο τρόπος με τον οποίο οι εκτεινασκιδίνες καταστρέφουν το γενετικό υλικό που είναι απαραίτητο για την επιβίωση του κυττάρου. Ωστόσο, τα κύτταρά μας, καρκινικά ή μη, δεν είναι τόσο ευαίσθητα ώστε να υποστούν μια τόσο



Ο μηχανισμός δράσης της Et743: η εκτεινασκιδίνη ενεργοποιείται και προσδένεται στο DNA, καταστρέφοντάς τα, με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο

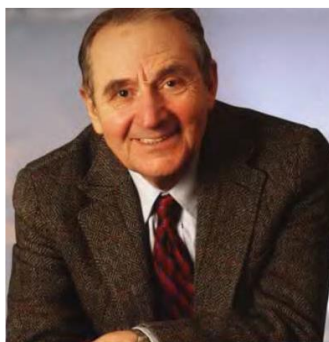
βίαη αντίδραση χωρίς αντίσταση: υπάρχουν ένζυμα μέσα στα κύτταρα, αποκλειστικός σκοπός των οποίων είναι η επιδιόρθωση βλαβών του DNA. Τα ένζυμα αυτά πηγαινοέρχονται πάνω κάτω στη διπλή έλικα, ψάχνοντας τμήματα



Τρισδιάστατη μορφή της τραβεκτεδίνης

που πιθανώς χρειάζονται επιδιόρθωση. Αυτά τα ένζυμα αναπτύχθηκαν, διότι το DNA φθείρεται συνεχώς, ακόμα και υπό κανονικές συνθήκες. Για παράδειγμα η έκθεση σε υπεριώδεις ακτινοβολίες μπορεί να οδηγήσει σε αντιδράσεις διμερισμού, δημιουργώντας κυκλοβουτανικούς δακτυλίους, οι οποίοι παραμορφώνουν την έλικα. Ένα από αυτά τα ένζυμα, το NER, αφαιρεί τα κατεστραμμένα τμήματα και σε συνεργασία με άλλους κυτταρικούς μηχανισμούς ενσωματώνει νέα νουκλεοτίδια και ξαναδημιουργεί μία τέλεια

έλικα. Μία νέα έρευνα έφερε στο φως μία νέα ιδέα για τη διάσπαση του DNA από την Et743, η οποία εξηγεί τη σχέση μεταξύ της κυτταροτοξικότητας της Et743 και την παρουσία του άθικτου ενζύμου NER στο κύτταρο. Σε αυτή την υπόθεση, η προβληματική περιοχή του DNA που δημιουργείται από την πρόσδεση του Et743, αναγνωρίζεται από το NER, το οποίο και την κόβει. Ωστόσο η Et743 συνεχίζει να ανταγωνίζεται το κύτταρο, ώσπου τελικά απενεργοποιεί το ένζυμο, με αποτέλεσμα να μένει μία τρύπα στον σκελετό, η σοβαρότητα της οποίας είναι τέτοια που οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο. Εφόσον είναι επιβεβαιωμένο ότι η Et743 μπορεί να σχάζει το DNA, ίσως οι 2 παραπάνω μηχανιστικές υποθέσεις να ισχύουν και ίσως να υπάρχει παραπάνω από ένας κυτταρικός στόχος της Et743 με παραπάνω τρόπους που μπορεί να επέμβει στο DNA συγχρόνως. Σε μοριακό επίπεδο, τόσο μικρές λεπτομέρειες είναι δύσκολο να διακριθούν. Αυτό που είναι αναμφισβήτητο είναι ότι η Et743 εφαρμόζει τις δυνατότητές της μέσω ενός πρωτόγνωρου τρόπου

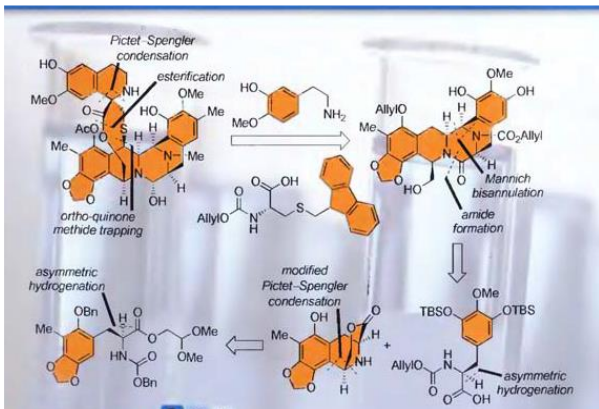


O E.J. Corey

λειτουργίας. Υπήρχε, λοιπόν η ελπίδα ότι η Et743 θα γινόταν το νέο όπλο στη μάχη κατά του καρκίνου, εφόσον βέβαια περνούσε τα τελικά στάδια των κλινικών δοκιμών με επιτυχία. Αυτή η περίοδος ήταν η πιο κουραστική στην όλη διαδικασία της ανακάλυψης και ανάπτυξης φαρμάκων και ίσως τελικά να μην κατέληγε στην παραγωγή ενός νέου φαρμάκου. Όλα τα κλινικά υποψήφια φάρμακα πρέπει να περάσουν συγκεκριμένα κριτήρια ασφάλειας και αποτελεσματικότητας σε ανθρώπους, καθώς και να έχουν πλεονεκτήματα υπέρ των ήδη υπάρχουσών θεραπειών πριν λάβουν την επίσημη σφραγίδα

επικύρωσης από τις αρμόδιες αρχές.

Πριν αρχίσουν οι κλινικές δοκιμές για την Et743 έπρεπε να βρεθεί λύση στο μεγάλο πρόβλημα του εφοδιασμού. Μία μόνο δόση Et743 θα απαιτούσε το συγκέντρωση και την επεξεργασία τόσο μεγάλου αριθμού αυτού του σπάνιου και απρόσιτου ζώου, που αυτή η προσέγγιση δεν είναι καθόλου πρακτική. Μία χημική σύνθεση



Η ρετροσυνθετική ανάλυση του Corey για την Et743 με τα βιομηχανικά χαρακτηριστικά και τις αλληλουχίες ενός αντιδραστήρα

χαρακτηρίσει δομικά τις μεμονομένες εκτεινασκιδίνες.

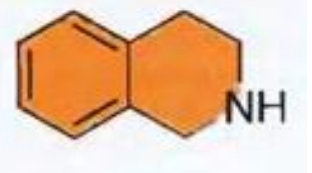
Πρότειναν μία αλληλουχία μετασχηματισμών που ξεκινούσε με το διμερισμό του αμινοξέος τυροσίνη, και τελικά οδηγούσε στο σκελετό της εκτεινασκιδίνης. Στη φύση βέβαια, η παρασκευή αυτή είναι μία εύκολη διεργασία, συγκρινόμενη με την εργαστηριακή σύνθεση, εξαιτίας της ενζυματικής μηχανής που οργανώνει και επιταχύνει τις αντιδράσεις μέσα στον οργανισμό.

Η δομή Et743 περιέχει τρεις μονάδες τετραϋδροϊσοκινολίνης ισχυρά προσδεμένες μέσω ενός περίπλοκου συστήματος δακτυλίων (γεφυρωμένοι και συγχωνευμένοι), συμπεριλαμβανομένου και ενός ασυνήθιστου δεκαμελούς δακτυλίου που φέρει ένα εσωτερικό σουλφιδικό τμήμα. Η ολική εναντιοεκλεκτική σύνθεση του Corey συμπεριλάμβανε έναν αριθμό βιομηχανικών χαρακτηριστικών και εντυπωσιακές αλληλουχίες «ενός αντιδραστήρα».

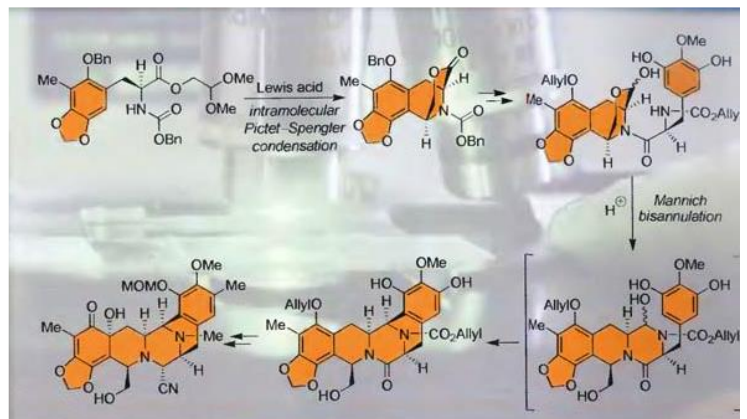
Επίσης, η στρατηγική που χρησιμοποιήθηκε, όπως συμβαίνει παραδοσιακά με τις μεθόδους του Corey, ξεπέρασε έξυπνα τα εμπόδια που βρέθηκαν μπροστά της. Τα κύρια σημεία της σύνθεσης αυτής περιλαμβάνουν δύο ασύμμετρες υδρογονώσεις για τις οποίες χρησιμοποιήθηκαν υπερσύγχρονες τεχνολογίες προκειμένου να υπάρχει η επιθυμητή στεreoχημεία, ενδομοριακές και διαμοριακές αντιδράσεις Pictet-Spengler και μία ενδομοριακή διπλή δακτυλίωση κατά Mannich.

που διεξάχθηκε από τον E.J. Corey και την ομάδα του στο πανεπιστήμιο Harvard το 1996 είχε στόχο την εύρεση λύσης, προκειμένου η ουσία να μπορεί να ερευνηθεί ως πιθανό φάρμακο σε κλινική δοκιμή. Τα πρώτα στοιχεία που οδήγησαν προς την επίλυση της συνθετικής πρόκλησης προτάθηκαν στην υπόθεση που αφορούσε τις βιοσυνθετικές ρίζες των εκτεινασκιδινών που είχαν προτείνει

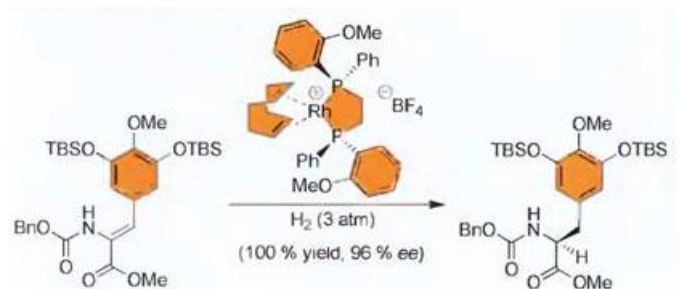
ο Rinehart και οι συνεργάτες του, η ίδια ομάδα επιστημόνων που είχε απομονώσει και



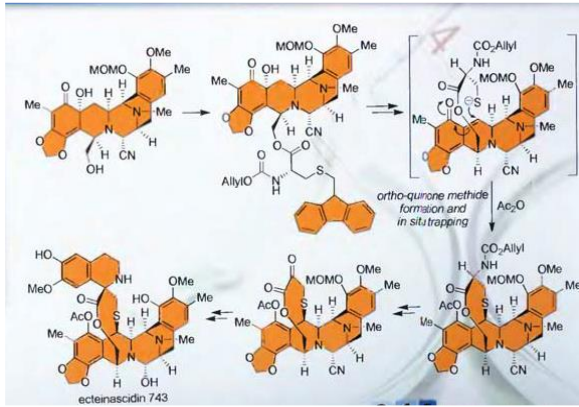
Τετραϋδροϊσοκινολίνη



Κύρια σημεία από τα αρχικά στάδια της ολικής σύνθεσης της Et743 του Corey: παρατηρείται η αντίδραση Pictet-Spengler και η διπλή δακτυλίωση κατά Mannich



Η καταλυτική ασύμμετρη υδρογόνωση



Τα τελικά στάδια της ολικής σύνθεσης της εκτεινασκιδίνης 743 του Corey: παρατηρείται η δημιουργία της όρθο-μεθιδιο-κινόνης

Αυτή η αλληλουχία επέτρεψε στους ερευνητές να συνθέσουν ένα προηγμένο εξακυκλικό ενδιάμεσο γρήγορα και αποτελεσματικά, προετοιμάζοντας το σύστημα για ένα καταγισμό αντιδράσεων, προκειμένου να ενσωματωθεί ο προαναφερθής δεκαμελής δακτύλιος με το σουλφιδικό τμήμα. Η αντίδραση αυτή περιελάμβανε τη δημιουργία μίας όρθο μέθιδιο κινόνης, την ανακάλυψη μιας ενωμένης θειολικής ομάδας και την ενδομοριακή ένωση αυτών των δύο πολύ δραστικών ομάδων προς σχηματισμό ενός

μεγάλου δακτυλίου. Μια ακόμα σειρά πολλών αντιδράσεων που δημιουργεί το τελικό σύστημα δακτυλίων και 2 ενέργειες αποπροστασίας συμπληρώνουν την ολική σύνθεση. Η συνθετική μέθοδος του Corey αποδείχθηκε κατάλληλη για παραγωγή μεγάλης κλίμακας και λίγο αργότερα η μέθοδος βελτιώθηκε περαιτέρω από τον Corey και την ομάδα του. Η ισπανική φαρμακοβιομηχανία PharmaMar έχει

αναφέρει μία μερική συνθετική πορεία για την Et743 από κυανοσαφρακίνη Β, ένα απλούστερο φυσικό προϊόν που είναι διαθέσιμο σε μεγάλες ποσότητες από βακτηριακές καλλιέργειες. Αυτά τα κατορθώματα της οργανικής συνθετικής χημείας βοήθησαν ώστε να ξεπεραστεί το πρόβλημα της ανεπάρκειας της Et743 και συνεπώς ξεκίνησαν να γίνονται οι κλινικές δοκιμές ανά τον κόσμο προκειμένου να αξιολογηθεί η εκτεινασκιδίνη 743 (η οποία είναι επίσης γνωστή με τα ονόματα τραβεκτεδίνη και Yondelis).

Το 2002 ο Tohru Fukuyama και η ομάδα του στο Πανεπιστήμιο του Τόκυο, δημοσίευσαν μία νέα, πιο «εκλεπτυσμένη» μέθοδο ολικής σύνθεσης της Et743, η οποία το 2006 συνοδεύτηκε από μία ολική σύνθεση από το εργαστήριο

του Jiering Zhu στη Γαλλία και μία τυπική ολική σύνθεση από τον Samuel J. Danishefsky στο Πανεπιστήμιο Columbia των ΗΠΑ.

Η οικογένεια των φυσικών προϊόντων σαφραμυκίνης, η οποία περιλαμβάνει τη σαφραμυκίνη Α και την κυανοσαφραμυκίνη Β, ήταν επίσης το αντικείμενο πολλών συνθετικών μελετών, συμπεριλαμβανομένων και των συνθέσεων μεγάλου αριθμού αναλόγων, με χρήση τεχνικών στερεής φάσης από την ομάδα του Andrew G. Myers στο Πανεπιστήμιο Harvard. Το 2004 ο Corey και η ομάδα του ανέφεραν την αποτελεσματική ολική σύνθεση ενός άλλου πιθανού αντικαρκινικού φυσικού θαλάσσιου προϊόντος, της



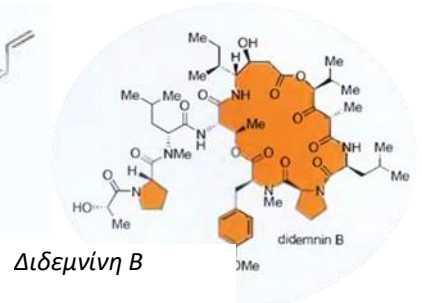
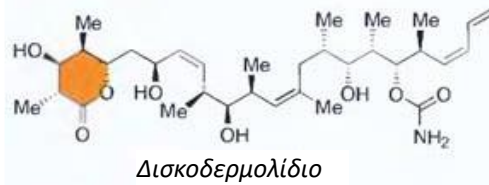
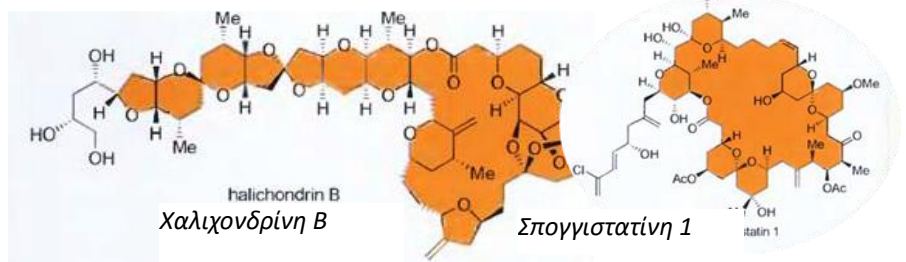
Ο Tohru Fukuyama



Ο Andrew G. Myers

σαλινοσποραμίδης A. Αυτός ο εξαιρετικά δραστικός αναστολέας πρωτεασών, είχε απομονωθεί μόλις ένα χρόνο νωρίτερα από την ομάδα του William H. Fenical στο Ινστιτούτο Ωκεανογραφίας Scripps στις ΗΠΑ. Ο Fenical έχει υπάρξει σπουδαίος

εξερευνητής των φυσικών θαλάσσιων προϊόντων, έχοντας απομονώσει ένα πολύ μεγάλο αριθμό συναρπαστικών χημικών δομών με μία σειρά σημαντικών βιολογικών ενεργοτήτων. Στο ίδιο ινστιτούτο ο D. John Faulkner ήταν ένας ακόμα πρωτοπόρος στο χώρο



Η Madeleine M. Joullie, η πρώτη γυναίκα που εισήχθη στο προσωπικό του Χημικού του Πανεπιστημίου της Πενσυλβανίας το 1953, καθώς και η πρώτη γυναίκα οργανική χημικός που απέκτησε μία δυναμική θητεία (tenure track: σίγουρη και αναπτυσσόμενη) σε μεγάλο πανεπιστήμιο της Αμερικής.^[3]

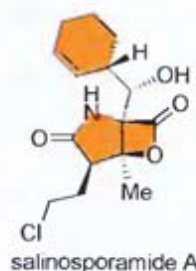
της χημείας φυσικών θαλάσσιων προϊόντων, με πολλές αναγνωρισμένες σημαντικές ανακαλύψεις.

Πάρα πολλοί κυτταροτοξικοί μεταβολίτες έχουν απομονωθεί από θαλάσσιους οργανισμούς, στους οποίους έχει αποδοθεί ο γενικευμένος όρος των «κυτταροτοξικών φυσικών θαλάσσιων προϊόντων». Παρόλο που μοιράζονται κοινή περιβαλλοντική προέλευση και γενικά κοινή βιολογική ενεργότητα, δεν έχουν σχεδόν τίποτα άλλο κοινό. Τα προϊόντα αυτά παρουσιάζουν ένα τεράστιο εύρος δομικών ποικιλομορφιών και συχνά περιλαμβάνουν πολύπλοκες διατάξεις με ετεροάτομα, που δεν απαντώνται στις

ενώσεις της ξηράς. Αυτά τα χαρακτηριστικά σε συνδυασμό με τη συνεχή ανάγκη για την ανακάλυψη νέων αντικαρκινικών φαρμάκων, εμπνέουν και γοητεύουν τους συνθετικούς οργανικούς χημικούς.

Κάποια από τα παραδείγματα που φαίνονται παραπάνω συγκαταλέγονται στις πιο περιζήτητες ουσίες των τελευταίων χρόνων. Ο Yoshito Kishi και η ομάδα του στο Πανεπιστήμιο Harvard ολοκλήρωσαν

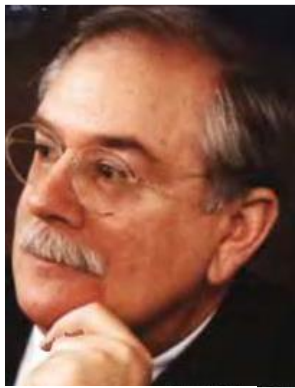
την ολική σύνθεση της χαλιχονδρίνης B το 1990 και η Ιαπωνική φαρμακευτική εταιρεία Eisai ερευνά τις δυνατότητες που έχουν τα αναλογικά μορφοποιημένες χαλιχονδρίνης B ως φάρμακα. Οι διδεμνίνες απομονώθηκαν και συντέθηκαν από την ομάδα του Rinehart και έχουν υπάρξει το αντικείμενο





O Amos B. Smith

πολλών βιολογικών και συνθετικών ερευνών, ιδιαίτερα από την ομάδα της Madeleine M. Joullié στο Πανεπιστήμιο της Pennsylvania (ΗΠΑ) και με άλλες συνθέσεις να έχουν αναφερθεί από τον Ulrich Schmidt (Πανεπιστήμιο Στουτγάρδης) και τον Takayuki Shioiri (Πανεπιστήμιο της Ναγκόγια, Ιαπωνία). Οι σπογγιστατίνες είναι μία οικογένεια δραστικών αντικαρκινικών πολυκετιδίων που απομονώθηκε από θαλάσσια σφουγγάρια. Η σπανιότητα τέτοιων ενώσεων από φυσικές πηγές έχει παρακινήσει έναν αριθμό συνθετικών προγραμμάτων που κατέληξαν σε επτά ολοκληρωμένες συνθέσεις μέχρι το 2008. Αυτές προέκυψαν από τις ομάδες των: Yoshito Kishi, David A. Evans (Harvard), Amos B. Smith III (Pennsylvania), Ian Paterson (Cambridge), Michael T. Crimmins (North Carolina), Clayton H. Heathcock (California) και Steven V. Ley (Cambridge).



O David A. Evans



O Clayton H. Heathcock



O Steven V. Ley



O Michael T. Crimmins

Τέλος, η αντικαρκινική δραστηριότητα του δισκοδερμολιδίου έχει εμπνεύσει πολλές ολικές συνθέσεις, συμπεριλαμβανομένης και της προετοιμασίας μεγάλων ποσοτήτων από τη φαρμακευτική εταιρεία Novartis, της οποίας η υβριδική σύνθεση δανείζεται στοιχεία από το έργο των Smith και Paterson.

Η εργασία αυτή, περιέγραψε ορισμένα από τα πιθανά φάρμακα που βρέθηκαν στα φυσικά θαλάσσια προϊόντα, αποδεικνύοντας τον



O Yoshito Kishi



O D. John Faulkner

πλούτο των ωκεανών. Δυστυχώς όμως σήμερα υπάρχει η τάση να παραμελούνται οι θάλασσες και οι ωκεανοί ως προς την ανακάλυψη νέων φαρμάκων, ίσως λόγω του ότι δεν είναι τόσο προσιτοί όσο η στεριά. Τα παλιά χρόνια ήταν κάτι το θαυμαστό. Οι αρχαίοι Έλληνες φιλόσοφοι συγκλονίζονταν από τα δυνατά του ρεύματα και τις παλίρροιες. Οι Ευρωπαίοι εξερευνητές του μεσαίωνα που εξερευνούσαν τα άπλετα μυστήριά του, τιμόντουσαν ως ήρωες και γενναίοι πρωτοπόροι αυτού του τρομακτικού



Ian Paterson

αλλά και εκπληκτικού κόσμου. Στα Βέδικα γραπτά από την Ινδία του 3000 π.Χ. η θάλασσα θεωρείται ως ένα θησαυροφυλάκιο με πλούτη που περιλαμβάνει και το ελιξίριο της αθανασίας. Αυτοί οι πνευματικοί συγγραφείς ίσως ήταν πιο κοντά στην αλήθεια απ' ό τι θέλουμε να παραδεχτούμε εμείς οι σύγχρονοι άνθρωποι, καθώς αν οι ωκεανοί περιέχουν εκατομμύρια νέα αντικαρκινικά φάρμακα, αντιβιοτικά και γενικώς απαραίτητα φάρμακα, τότε ίσως μπορούν πραγματικά να κρύβουν το μυστικό της μακροβιότητας του ανθρώπου.



Βιβλιογραφία:

1. K. C. Nicolaou, Tamsyn Montagnon, *Molecules That Changed the World*, Wiley 2008
2. <https://en.wikipedia.org/wiki/Trabectedin>
3. https://en.wikipedia.org/wiki/Madeleine_M._Joulli%C3%A9