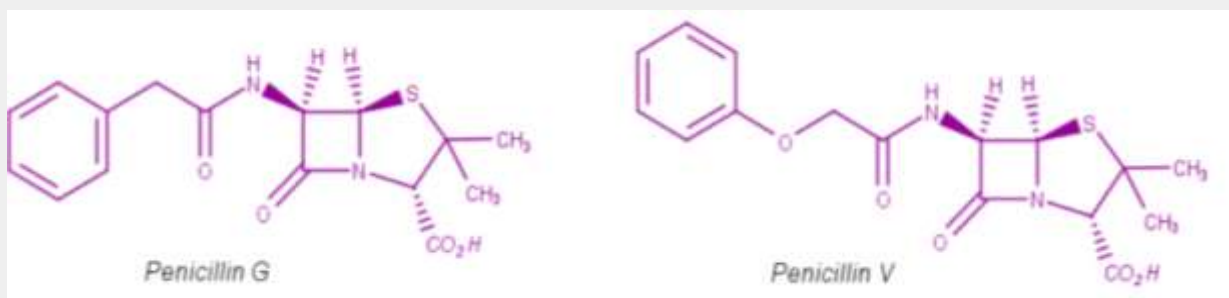
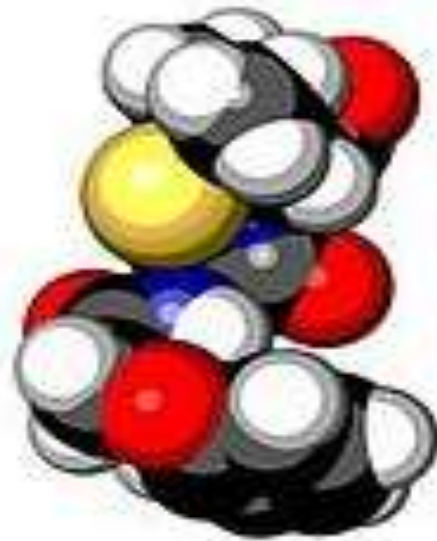
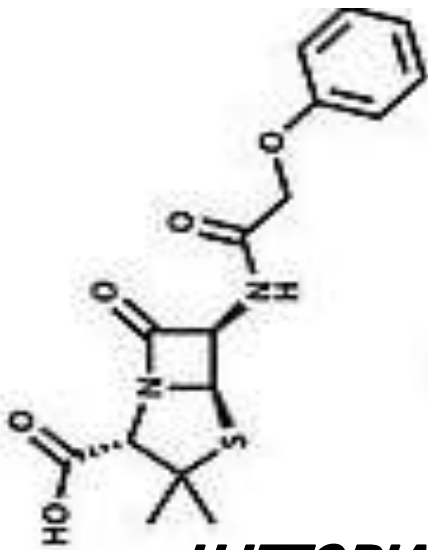




ΠΕΝΙΚΙΛΙΝΗ



**ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΟΡΓΑΝΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ &
ΜΟΡΙΑΚΗ ΜΟΝΤΕΛΟΠΟΙΗΣΗ**



~ Η ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΠΕΝΙΚΙΛΙΝΗΣ ~

Η διήγηση της ιστορίας για την ανακάλυψη και την ανάπτυξη της πενικιλίνης, είναι πραγματικά αξιοσημείωτη και διαθέτει όλα τα χαρακτηριστικά ενός μυθιστορήματος κορυφαίων πωλήσεων: απρόσμενη ανακάλυψη, πολιτική δολοπλοκία σε πολεμικό χρονικό πλαίσιο, έντονο ανταγωνισμό και έναν εκλεκτό θίασο χαρακτήρων. Το σημαντικότερο όμως είναι ότι επιλύθηκε το τρομερό πρόβλημα θανατηφόρων βακτηριακών λοιμώξεων, χάρη στην εξαγωγή ενός ευρέως φάσματος αντιβιοτικού από ένα τυπικό είδος μούχλας, σε συνδυασμό με μία παρατήρηση του Alexander Fleming το 1928. Ωστόσο, παρά την ιδιαίτερης σημασίας διαπίστωση του Fleming και τις προσπάθειες που κατέβαλλαν πολλοί χημικοί, η επιτυχής σύνθεση της πενικιλίνης ως χρήσιμο φάρμακο δεν ήταν δυνατή μέχρι και το 1957.

Παρ' όλα αυτά, η επική αυτή ιστορία σηματοδοτείται πολύ νωρίτερα, με την επανάσταση ασθένειας, καθώς πριν τις σπουδαίες ανακαλύψεις του Louis Pasteur, οι ασθένειες, τα νοσήματα και ο θάνατος, εκλαμβάνονταν συχνά ως μεταφυσικά γεγονότα. Στον Δυτικό κόσμο, παρερμηνευαν τις θανατηφόρες ασθένειες και

ιδιαίτερα τις πανδημίες ως θεία νέμεσις, προκειμένου να τιμωρηθεί η ανθρωπότητα για τα αμαρτήματά της. Η εργασία του Pasteur κατέληξε στη διατύπωση της «Μικροβιακής Θεωρίας της νόσου», σύμφωνα με την οποία οι μολυσματικές ασθένειες δεν πηγάζουν από οργή του Θεού, ούτε αποτελούν μορφή εκδίκησης, αλλά προξενούνται από μικρόβια.

Ο Louis Pasteur σπούδασε χημεία στο Παρίσι και το 1848 πραγματοποίησε την πρώτη του βαρυσήμαντη συνεισφορά στην πρόοδο της Επιστήμης, σε ηλικία μόλις 26 ετών. Καθώς διεξήγαγε έρευνα σε κρυστάλλους τρυγικού οξέος στο μικροσκόπιο, οδηγήθηκε στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν δύο ξεχωριστές μορφές που η μία ήταν κατοπτρικό είδωλο της άλλης. Μάλιστα, κατάφερε να διαχωρίσει αυτές τις δύο μορφές και ανακάλυψε πως σε διάλυμα προκαλούν στροφή του επιπέδου του πολωμένου φωτός σε αντίθετες κατευθύνσεις. Η μελέτη αυτή σηματοδοτεί τη γέννηση του θεμελιώδους και καιρίας σημασίας πεδίου της Στερεοχημείας. Οι κρύσταλλοι που μελέτησε ο Pasteur προέρχονταν από ίζημα κρασιού και ο ίδιος εστίασε το ενδιαφέρον του στο επιστημονικό υπόβαθρο της ζύμωσης, οδηγώντας σε ακόμα περισσότερες λαμπρές ανακαλύψεις.



Εικόνα 1. Louis Pasteur.

Το 1856, ο Pasteur προσφέρθηκε να βοηθήσει την οικογένεια ενός φοιτητή που αντιμετώπιζε προβλήματα στη μονάδα ζύμωσης που κατείχε: ορισμένες φορές παρήχθη αλκοόλη όπως προβλεπόταν, αλλά κάποιες παρτίδες οδηγούσαν αντί αυτής σε γαλακτικό οξύ. Εκείνος, διερεύνησε τα μείγματα ζύμωσης στο μικροσκόπιο και παρατήρησε ότι κατά τη φυσιολογική παραγωγή τα κύτταρα της μαγιάς ήταν παχουλά και εκκολαπτόμενα, όμως στην περίπτωση του γαλακτικού οξέος ήταν μικρότερα σε μέγεθος και συνοδεύονταν από μικροβιακά κύτταρα με ραβδώσεις. Διαπίστωσε ότι εάν προηγηθεί ελαφρά θέρμανση του θρεπτικού υλικού πριν την έναρξη της ζυμώσεως, τα ανεπιθύμητα μικροβιακά κύτταρα θανατώνονταν, οδηγώντας τελικώς σε αναπαραγόμενες παρτίδες. Η μέθοδος αυτή, περίφημη ως «αποστείρωση», είναι ευρέως διαδεδομένη μέχρι και σήμερα, ιδιαιτέρως για γαλακτοκομικά προϊόντα. Ο Louis, μάλιστα, χρησιμοποιώντας μία φιάλη με λαιμό που ομοίαζε το σχήμα ενός κύκνου, υπέδειξε ότι τέτοιου είδους βακτήρια μεταφέρονται μέσω του αέρα. Μετέπειτα, ασχολήθηκε με την καταπολέμηση μίας παρασιτικής ασθένειας που παρατηρούνταν σε καλλιέργειες μεταξοσκωλήκων, των οποίων η φθορά είχε ολέθριο αντίκτυπο στις εμπορικές συναλλαγές μεταξύ της Ευρώπης, όπου απέδειξε ότι οι υγιείς σκώληκες ήταν δυνατόν να μολυνθούν φωλιάζοντας σε φύλλα που έχουν προηγουμένως προσβληθεί από άλλους, νοσούντες σκώληκες.

Αυτές οι πρώτες του μελέτες οδήγησαν τον Pasteur να διατυπώσει την ιδέα ότι διάφοροι ζωντανοί μικροοργανισμοί διαδίδουν λοιμώδεις ασθένειες και συνέχισε το έργο του με ακόμα περισσότερες ρηζικέλευθες ανακαλύψεις. Στηριζόμενος στην ανακάλυψη εμβολίου για την ευλογιά από τον Edward Jenner, ο Pasteur ανέπτυξε εμβολιασμό ως προφυλακτική στρατηγική για να ξεπεραστούν διάφορες ιικές μολύνσεις, συμπεριλαμβανομένων αυτών της λύσσας και εκείνων που ευθύνονται για τη χολέρα και τη λοιμώδη ασθένεια του άνθρακα. Χάρη στην εκτενή αναγνώριση του έργου που επιτέλεσε, ο Pasteur απεβίωσε έχοντας επίγνωση πως κληροδότησε στη Γαλλία μία ισχυρή και δραστήρια επιχείρηση που διεξήγαγε επιστημονική έρευνα, το “Ινστιτούτο Pasteur”, στο Παρίσι (Pasteur Institute, Paris). Ο ίδιος είχε ενασχοληθεί με το συγκεκριμένο ερευνητικό σχέδιο με πάθος, καθώς πίστευε βαθύτατα στην επιτυχία της εφαρμογής των πειραματικών επιστημών για την εξάλειψη των πανδημιών που μαστίζουν την ανθρωπότητα και συχνά έκανε λόγο γι’ αυτό αποδίδοντας ιδιαίτερη έμφαση. Τα λόγια του απεδείχθησαν προφητικά και παραμένουν επίκαιρα ακόμα και στον σύγχρονο κόσμο, παρά τις αλλαγές και την πρόοδο που έχουν σημειωθεί σε σχέση με εκείνη την εποχή.



Εικόνα 2 . Ο Joseph Lister, όπου έκανε χρήση σπρέι καρβοξυλικού οξέος σε μία από τις πρώτες χειρουργικές επεμβάσεις του το 1865.

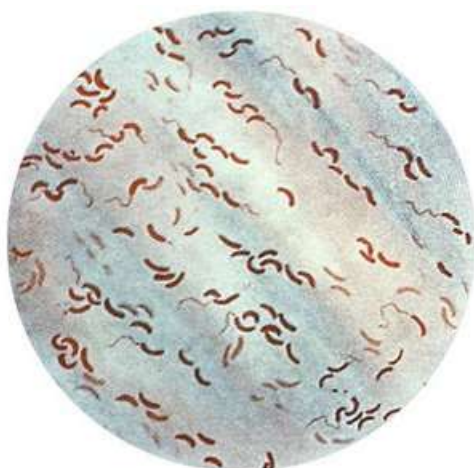
Συγχρόνως, ένας νεαρός Κουάκερος, στο Ηνωμένο Βασίλειο, χειρουργός στο επάγγελμα, ονόματι Joseph Lister, σαγηνευμένος από το έργο του Louis Pasteur, τον προέτρεψε να υποδείξει κάποια συσχέτιση μεταξύ της σημασίας τραυματισμών και διάφορων μικροβίων που βρίσκονται στον αέρα. Έναυσμα για την προσωπική έρευνα του Lister όσον αφορά τα αίτια της σήψης στάθηκε ο προβληματισμός του για τον ισχυρισμό του περίφημου χημικού Justus von Liebig ότι η σήψη αποτελεί ένα είδος αυτανάφλεξης που προκύπτει όταν νωποί σωματικοί ιστοί έρχονται σε επαφή με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο. Στη χειρουργική μονάδα του Lister στο “Glasgow Royal Infirmary” η συγκεκριμένη κλινική περίπτωση οδηγούσε περισσότερο από το 50% των ασθενών του αναπόδραστα σε θάνατο. Μάλιστα, ο ίδιος εμπνεύστηκε ακόμα περισσότερο να λάβει δράση για αυτήν τη δυσοίωνη κατάσταση όταν

διάβασε ότι το καρβολικό οξύ χρησιμοποιούνταν στην επεξεργασία λυμάτων στο Καρλάιλ και πως τα χωράφια που έχουν υποστεί κατεργασία με την προκύπτουσα λάσπη, απαλλάχθηκαν από οποιαδήποτε μόλυνση που διαφορετικά θα μεταβιβάζονταν και στα βοοειδή που βοσκούσαν σε αυτήν την περιοχή. Ο Lister άρχισε να αποστειρώνει πληγές και γάζες με ένα διάλυμα καρβολικού οξέος και το 1867 ήταν πλέον σε θέση να αναγγείλει στη Βρετανική Ιατρική Ένωση (British Medical Association) ότι οι περιθαλπόμενοι του κατάφεραν να υπερνικήσουν τη σήψη στο εντυπωσιακό διάστημα των 9 μηνών χάρη στην εφαρμογή αυτού του πρωτόκολλου. Ο Lister, πρωτοπόρος στην εδραίωση αντισηπτικών διαλυμάτων, διέδωσε την τήρηση υγιεινής στα χειρουργεία, διασώζοντας αμέτρητους ασθενείς από οδυνηρό γαγγραινώδη θάνατο.



Εικόνα 3. Αριστερά απεικονίζεται ο Joseph Lister και δεξιά ο Robert Koch.

Ο Γερμανός Ιατρός Robert Koch, εργαζόμενος ατομικά ως Περιφερειακός Ιατρικός υπεύθυνος Υγείας του Wollstein κατά τη διάρκεια του Γαλλοπρωσικού πολέμου της δεκαετίας του 1870, κατάφερε να υποδείξει μετά βεβαιότητας πως το βακτήριο "Βάκιλος του άνθρακα" προκαλούσε ασθένεια σε πειραματόζωα που προσβάλλονταν. Επιπροσθέτως επινόησε τεχνικές για την ανάπτυξη βακτηρίων και διαπίστωσε την πρωτοφανή ανθεκτικότητα ορισμένων οργανισμών, αλλά συγχρόνως και ότι δεν απαιτείται η διαμεσολάβηση ενός ζώου ξενιστή προκειμένου να ευδοκιμήσουν. Φωτογράφησε καλλιέργειες, έκανε διατριβή στις απαιτούμενες συνθήκες για τη μικροβιακή ανάπτυξη και επινόησε τη χρήση χρώσης για να βελτιώσει την ορατότητα τους, επιτυγχάνοντας τελικώς να διαχωρίσει μίγμα που περιείχε το "Δονάκιο της χολέρας" (*Vibrio cholerae*) και το "Μυκοβακτήριο της φυματίωσης" (*Mycobacterium tuberculosis*) που ευθύνονται για τις θανατηφόρες ασθένειες χολέρα και φυματίωση, αντίστοιχα. Το τελευταίο επίτευγμα του απέδωσε δικαιωματικά το 1905 το βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής.

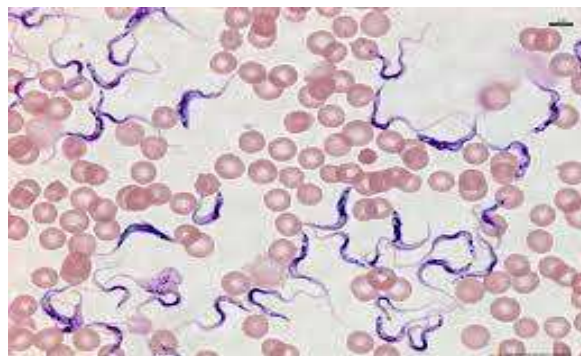


Εικόνα 4. *Vibrio cholerae*.

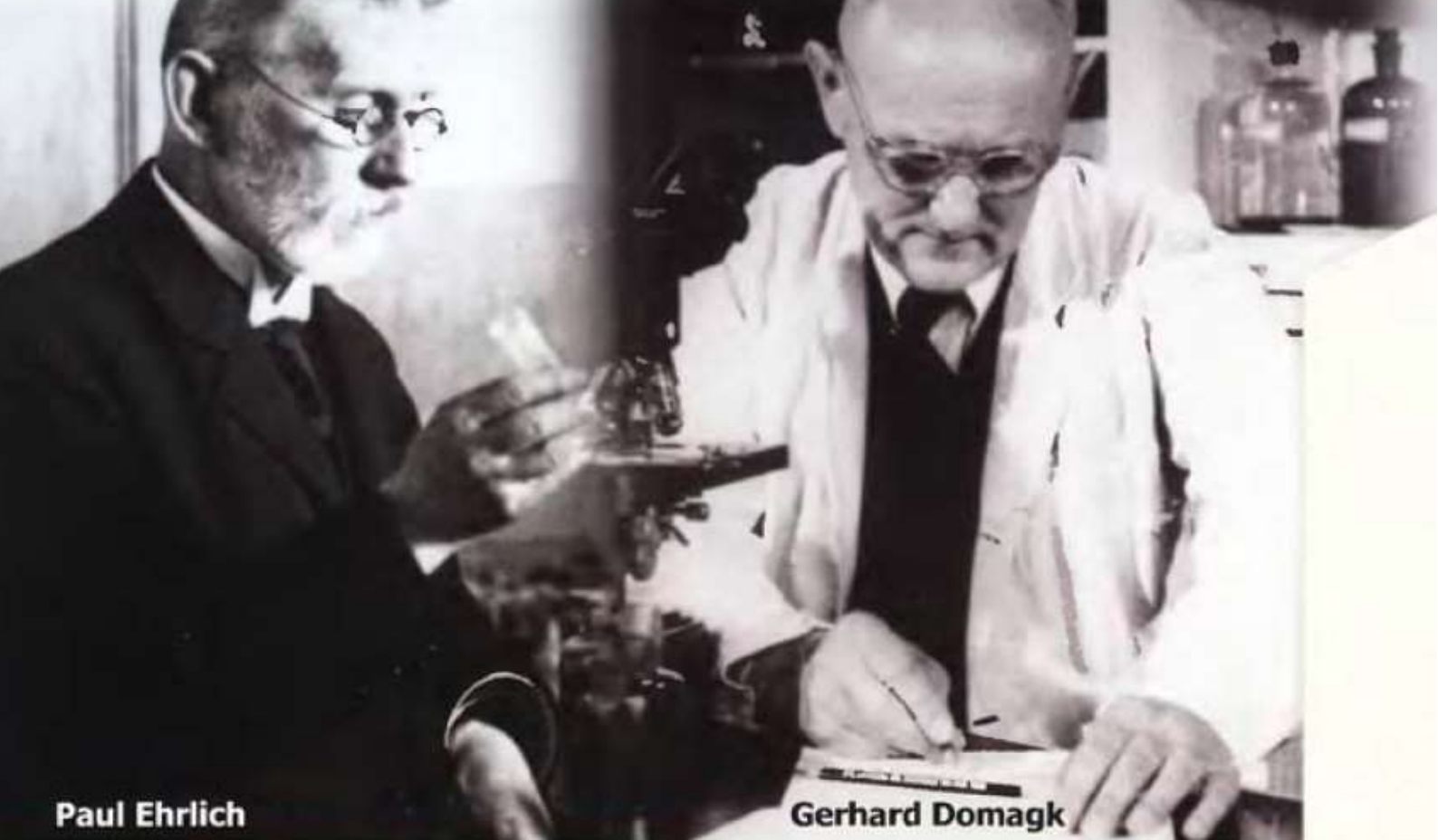
Ο προσδιορισμός της υποθάλπουσας αιτίας αυτών των ασθενειών υπήρξε μια δύσκολη και επίπονη μάχη που απαιτούνταν όλη η ενέργεια των διακεκριμένων επιστημόνων που ασχολούνταν, η ευρηματικότητα των οποίων επέφερε την επανάσταση στην πρακτική Ιατρική. Ο καθένας από αυτούς τους μεγαλοφυείς επιστήμονες χάραξε το δικό του ανεξίτηλο σημάδι στην Ιστορία, συμβάλλοντας άμεσα στη διάσωση ζωών. Η διήγηση της ιστορίας μας όμως βρίσκεται ακόμα στην αρχή. Στις αρχές της δεκαετίας του εικοστού αιώνα, το προσδόκιμο ζωής στην Αγγλία ανέρχονταν μόλις στα 45 έτη και η βρεφική θνησιμότητα υπερέβαινε κατά 150% το ρυθμό των γεννήσεων. Αρκετοί από αυτούς τους πρόωμους θανάτους που συνέβαλλαν σε αυτά τα συγκλονιστικά και ζοφερά στατιστικά δεδομένα οφείλονταν σε θανατηφόρες βακτηριακές λοιμώξεις. Έως εκείνη την περίοδο, είχε αναγνωριστεί η ύπαρξη των βακτηρίων, είχαν διευκρινιστεί οι οδοί μεταφοράς, είχε καθιερωθεί η αποστείρωση και η χειρουργική υγιεινή για την πρόληψη της λοίμωξης, ωστόσο δεν υπήρχε καμία λύση στο πρόβλημα της επιτυχούς θεραπείας ενός είδη μολυσμένου ασθενή. Οι άνθρωποι επομένως είχαν βάσιμους λόγους να τρέμουν στην ιδέα των βακτηριακών λοιμώξεων, καθώς συχνά οι προσβεβλημένοι κατέληγαν νεκροί.

Ο Paul Ehrlich, φίλος και πρώην συνάδελφος του Koch, πρότεινε πως οι μολύνσεις από βακτήρια μπορούν να ιαθούν εφαρμόζοντας θεραπεία στηριζόμενη σε ένα φάρμακο που ήταν τοξικό έναντι των βακτηρίων, ενώ για τον άνθρωπο-ξενιστή ήταν ακίνδυνο, φέρνοντας κατά αυτόν τον τρόπο στο προσκήνιο τη θεωρία της “Μαγικής σφαίρας, (Magic bullet)”. Αυτή η ιδέα ήταν εμπνευσμένη από την επιλεκτική χρώση βακτηριακών κυττάρων, μια τεχνική που είχε αναπτυχθεί για την ενίσχυση της μικροσκοπίας και ο Ehrlich γοητευμένος, αφοσιώθηκε στην εύρεση του αιτίου που προκαλούσε αυτήν τη διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων κυτταρικών τύπων.

Λόγω των πολυάριθμων βαφών που παράγονταν από τη Γερμανική βιομηχανία βαφής εκείνη τη χρονική περίοδο, υπήρξε η ευχέρεια παροχής μίας τεράστιας ποικιλίας δειγμάτων χημικών βαφών στον Ehrlich για δοκιμές. Σε συνεργασία με τον Ιάπωνα συνάδελφο του, Kiyoshi Shiga, τελικώς κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η βαφή “Trypan red”, που εντάσσεται στην κατηγορία των αζωχρώματων, ήταν αποτελεσματική στη θανάτωση των βακτηρίων του γένους *Trypanosoma gambiense*, βασικό παράγοντα που προκαλούσε τη μοιραία ασθένεια του ύπνου η οποία μεταδίδονταν μέσω της δηλητηριώδους μύγας της Αφρικής. Παρ’όλα αυτά, σε δοκιμές που διεξήχθησαν σε ανθρώπους στην Ουγκάντα, παρατηρήθηκαν απaráδεκτες παρενέργειες, που κυμαίνονταν από τύφλωση έως και θάνατο. Ο Ehrlich είναι επίσης γνωστός για την παρουσίαση των αρσενικών αλάτων “Salvarsan” (arsphenamine) και “Neosalvarsan” (neoarsphenamine) ως φαρμακευτικά μέσα για την καταπολέμηση της σύφιλης, προκαλούμενη από μόλυνση απ’την Ωχρά σπειροχοχαιτή ή αλλιώς τρεπόνημα (*Treponema pallidum*). Ωστόσο, εξαιτίας του προκαλούμενου πόνου στο σημείο της ένεσης, τις δυσάρεστες παρενέργειες και τις συχνές υποτροπές, τα φάρμακα αυτά σύντομα αντικαταστάθηκαν από ασφαλέστερα. Εντούτοις, τα ευρήματα του Ehrlich εισήγαγαν την εποχή της χημειοθεραπείας και υπήρξε ακόμη πρωτοπόρος στον τομέα της αιματολογίας και της ανοσολογίας, με τη συνεισφορά του να αναγνωρίζεται μέσω της απονομής του Βραβείου Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής το 1908, το οποίο διαμοιράστηκε με τον Ρώσο Ilya Ilyich Mechnikov, “Ως εύσημα για το έργο τους προς την ανοσία”.



Εικόνα 5. *Trypanosoma gambiense*.



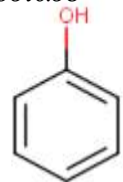
Paul Ehrlich

Gerhard Domagk

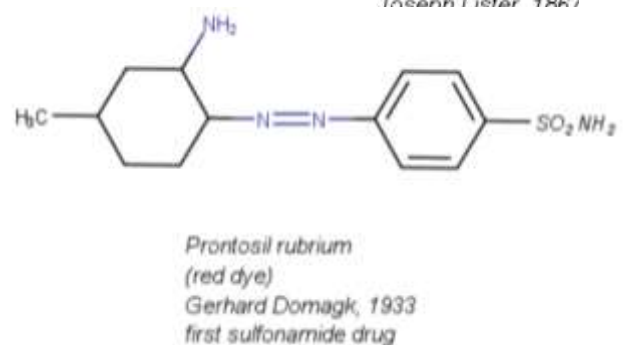
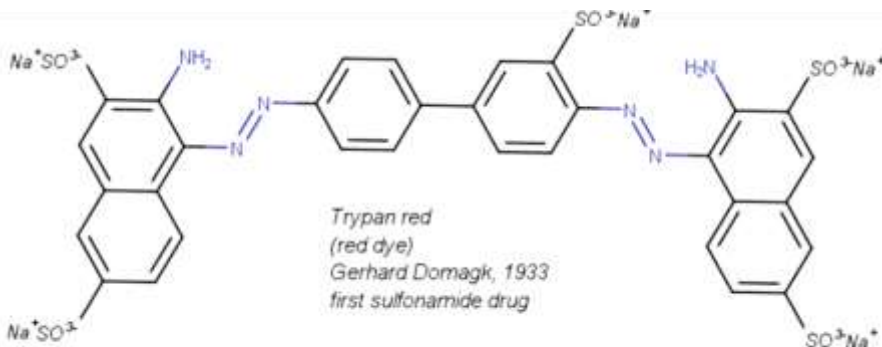
Εικόνα 6. Στα αριστερά, απεικονίζεται ο Paul Ehrlich και στα δεξιά ο Gerhard Domagk.

Το 1927, ο Gerhard Domagk, συνεχίζοντας αυτό το έργο στο ίδιο πνεύμα στα εργαστήρια της Κοινοπραξίας Βιομηχανιών Βαφικών Υλών (I.G Farbenindustrie), επικεντρώθηκε κατά κύριο λόγο στην εύρεση τελεσφόρων παραγόντων έναντι των αιμολυτικών στρεπτόκοκκων (τα βακτήρια που σχετίζονται με τις λοιμώξεις του λαιμού). Υπέδειξε το “Prontosil”, ένα κόκκινο αζώχρωμα για κλινικές δοκιμές, μία εύστοχη επιλογή, γιατί αυτή η ένωση περιείχε το ισχυρό σουλφοναμίδιο σε λειτουργική μορφή και αποδείχθηκε πολύ αποτελεσματικό έναντι των βακτηρίων. Συνεπώς, επήλθε η δημιουργία του πρώτου κλινικά χρησιμοποιούμενου εκπροσώπου της οικογένειας των σουλφοναμιδών ως αντιβακτηριακό παράγοντα, που σύντομα διαδέχθηκαν πολλά άλλα μέλη της ίδιας οικογένειας.

Η εύρεση της αντιβακτηριακής ενεργότητας του Prontosil απέδωσε στον Gerhard Domagk το Βραβείο Nobel Φυσιολογίας και Ιατρικής το 1939. Ο θρίαμβος του ωστόσο, απεδείχθη στην πορεία πιο προσωπική υπόθεση, αφού αναδύθηκε στην επιφάνεια πως σε κατάσταση απελπισίας ο Domagk χρησιμοποίησε το φάρμακο αυτό για να θεραπεύσει την άρρωστη κόρη του που ευρίσκοντο σε βρεφική ηλικία και νοσούσε από προσβολή σταφυλόκοκκου, αρκετό καιρό πριν γίνει διαθέσιμο το θεραπευτικό αυτό μέσο στο ευρύ κοινό. Ύστερα από μία αρχική περίοδο ευφορίας για την ανακάλυψη των σουλφοναμιδών, η πυρετώδης ζήτηση παρουσίασε ύφεση και η ανεπάρκεια τους άρχισε να γίνεται εμφανής. Παρά το γεγονός ότι αξιοποιούνται ακόμα και σήμερα σε σπάνιες περιπτώσεις, τα αντιβακτηριακά αυτά είναι πλέον παρωχημένα και πολύ περιορισμένου εύρους.



Phenol
(carbolic acid)
Joseph Lieber 1867



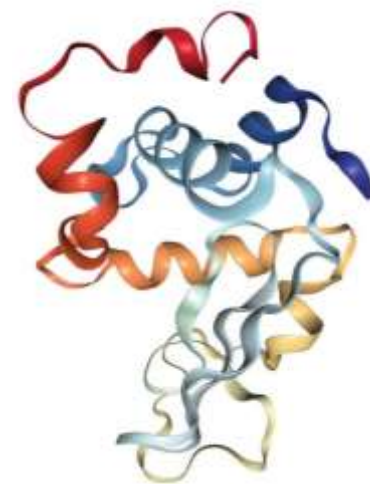
Ο *Enter Sir Alexander Fleming*, υιός ενός αγρότη προερχόμενου από τη Σκωτία, του οποίου ολόκληρη η καριέρα ενθαρρύνθηκε από μία αλληλουχία απρόσμενων και τυχαίων γεγονότων, έχοντας ανάγκη για επάγγελμα, έλαβε την απόφαση να βαδίσει στα χνάρια του μεγαλύτερου αδελφού του και να ακολουθήσει και ο ίδιος την Ιατρική και κατακτώντας υψηλές αποδόσεις στις προαπαιτούμενες εξετάσεις, του δόθηκε η δυνατότητα φοίτησης σε οποιοδήποτε πανεπιστήμιο επιθυμούσε. Ένας παράγοντας που συνέβαλλε στην επιλογή του Πανεπιστημίου *St. Mary*' υπήρξε το γεγονός ότι στο παρελθόν είχε αγωνιστεί στο άθλημα της υδατοσφαίρισης εναντίον τους. Το 1905, ο *Fleming*, έλαβε την απόφαση να εξειδικευτεί στη χειρουργική, μία απόφαση που θα τον ανάγκαζε να εγκαταλείψει το *St. Mary's* και να λάβει θέση κάπου αλλού.

Ο επικεφαλής του σκοπευτικού συλλόγου, που βασιζόνταν στις αψεγάδιαστες δεξιότητες του *Fleming* στη σκοποβολή, πληροφορούμενος για την επικείμενη αποχώρησή του, τον έπεισε να ακολουθήσει τον δικό του τομέα, τη μικροβιολογία, διατηρώντας κατά αυτόν τον τρόπο την ακεραιότητα της πρωταθλήτριας ομάδας. Ο *Alexander*, λοιπόν, δεν εγκατέλειψε ποτέ το *St. Mary's* και αναδείχθηκε τελικώς στον πιο διακεκριμένο βακτηριολόγο παγκοσμίως.

Τη δεκαετία του 1920, ο *Fleming* ανακάλυψε τη λυσοζύμη, ένα ένζυμο που ανιχνεύθηκε στα δάκρυα, η οποία παρουσίαζε μια φυσική, ήπια δραστηριότητα έναντι βακτηριακών παραγόντων. Η πρωτεΐνη αυτή συνιστά το πρώτο αντιβιοτικό που απομονώθηκε από το ανθρώπινο σώμα, αλλά εφόσον δεν ήταν αρκετά ισχυρή ώστε να εξολοθρεύσει τις πολύ διαδεδομένες μολύνσεις ο *Alexander* συνέχισε την αναζήτηση. Μία μέρα, σύμφωνα με τον θρύλο, καθώς καθάριζε από τα τρυβλία Πέτρι με καλλιέργειες βακτηρίων που συνέλλεγε σε έναν από τους νιπτήρες του εργαστηρίου του, διαπίστωσε σε ένα δοχείο την ύπαρξη μιας αναπτυσσόμενης μούχλας στο θρεπτικό υλικό άγαρ. Χάρη σε αυτό το απόλυτα τυχαίο συμβάν σε συνδυασμό με τη σχολαστική παρατηρητικότητα του *Fleming* εντοπίστηκε επιπροσθέτως η απουσία οποιασδήποτε αποικίας περιφερειακά των μυκήτων. Συνεχίζοντας τη μελέτη του, απέδειξε πως δεν περιορίστηκε απλώς η ανάπτυξη των βακτηρίων, αλλά και ότι τα υγιή βακτήρια υπέστησαν λύση της κυτταρικής μεμβράνης ώσπου τελικά θανατώνονταν μέσω της έκθεσης στη μούχλα (*Penicillium Chrysogenum*). Θεωρείται σκόπιμο ωστόσο να σημειωθεί σε αυτό το σημείο, πως η ακριβής ιστορία σχετικά με την ανακάλυψη της πενικιλίνης έχει τις ρίζες της σε παλαιότερες έρευνες, προηγούμενες από αυτές του *Alexander Fleming*.



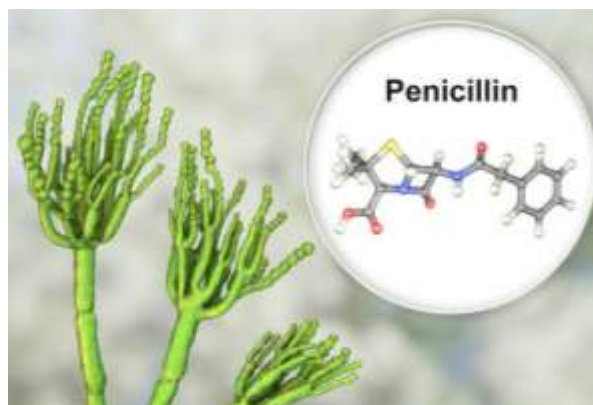
Εικόνα 7.
Το τρυβλίο Petri του Fleming.



Εικόνα 8.
Διάγραμμα κορδέλας λυσοζύμης.



Εικόνα 9. *Penicillium chrysogenum* στο μικροσκόπιο.



Εικόνα 10. *Penicillium Chrysogenum* και πενικιλίνη.



Εικόνα 11.
Φωτογραφία του Fleming που παρατηρεί το τρυβλίο. Ανακάλυψη πενικιλίνης.



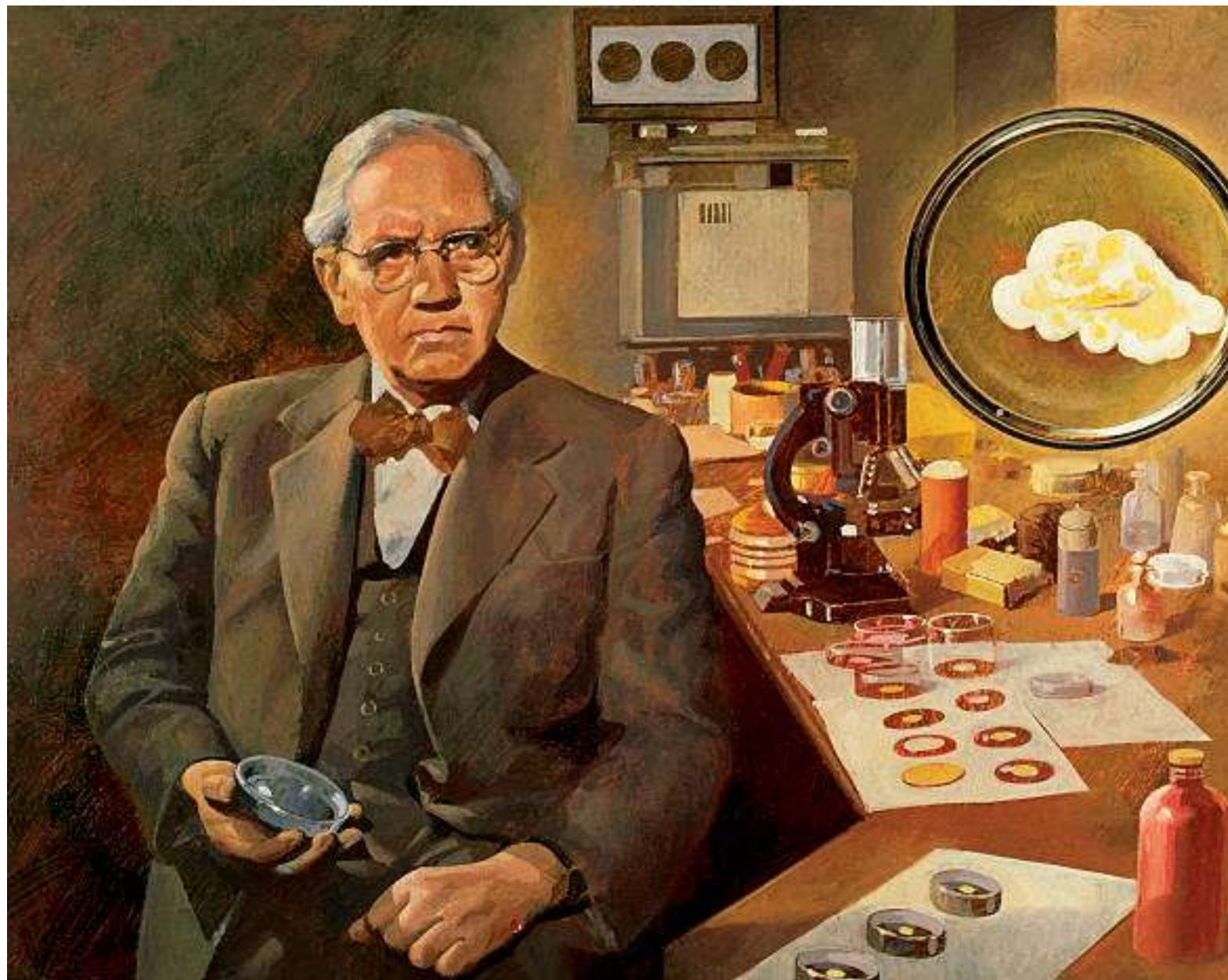
Εικόνα 12. *Staphylococcus aureus*.

ΠΑΡΑΘΕΜΑ 1

Πώς ακριβώς ανακάλυψε όμως ο Fleming την πενικιλίνη;

² Τον Αύγουστο του 1928, ο Alexander Fleming, τότε διευθυντής του Τμήματος Συστηματικής Βακτηριολογίας στο St. Mary's στο Λονδίνο, υπό την ηγεσία του Sir Almroth Wright, επέστρεψε από διακοπές στο ως συνήθως ακατάστατο εργαστήριο του. Καθώς καθάριζε τον σωρό ακαθάριστων, χρησιμοποιημένων τρυβλίων Petri, παρατήρησε ότι σε ένα από αυτά υπήρχαν ξεχωριστές αποικίες σταφυλόκοκκων και κοντά στη σφήνα του πάτου, μια αποικία μούχλας διαμέτρου περίπου 20mm. Το εντυπωσιακό ήταν πως γύρω από την αποικία μούχλας δεν εντοπιζόνταν ορατοί σταφυλόκοκκοι, ή σε ορισμένα σημεία υπήρχαν απλώς μερικές μικρές ημιδιαφανείς ομάδες. Ο Fleming σημείωσε την άγνωστη ουσία ως "πενικιλίνη", έναν όρο που πηγάζει από το όνομα ενός φυτού του γένους *Penicillium*, από το οποίο και προήλθε η δραστική ουσία, με την ίδια λογική όπου στο παρελθόν η λέξη "digitallin" επινοήθηκε για μία ουσία που προέρχεται από το φυτό *Digitalis*. Η ανακάλυψη αυτή δεν ήταν η μόνη, καθώς όπως προαναφέρθηκε 6 χρόνια πριν είχε ανακαλύψει τη λυσοζύμη.

Χρησιμοποιώντας αυτή τη μέθοδο, όπως επίσης και τη μέθοδο των διαδοχικών αραιώσεων, εξέτασε την ευαισθησία πολλών κοινών βακτηρίων και ανακάλυψε ότι πολλά από αυτά αναστέλλονταν έντονα, ενώ μερικά παρέμεναν ανεπηρέαστα. Αυτό το εύρημα οδήγησε και τους ερευνητές στην πρώτη πρακτική χρήση της πενικιλίνης, δηλαδή για την προετοιμασία διαφορικού μέσου καλλιέργειας. Λόγω της ευκρινούς και αυστηρής διάκρισης μεταξύ των ευαίσθητων και των μη ευαίσθητων μικροβίων, η προσθήκη πενικιλίνης στο μέσο καλλιέργειας ανέστειλε όλα τα ευπαθή, επιτρέποντας στα μη ευπαθή να καλλιεργηθούν ανεμπόδιστα. Ιδιαίτερα ξεχωριστή ιδιότητα του μορίου ήταν η δραστικότητα του: ακόμα και έπειτα από 1000 φορές αραιώση, το υγρό καλλιέργειας προκαλούσε αναστολή της ανάπτυξης σταφυλόκοκκου, καθιστώντας την τριάντα φορές πιο ισχυρή από τη φαινόλη, η οποία έχανε την ανασταλτική της δράση έπειτα από 300 αραιώσεις. Κατά αυτόν τον τρόπο απέδειξε ότι η πενικιλίνη ήταν βακτηριοστατική (δηλαδή αναστέλλει τη μικροβιακή ανάπτυξη), αλλά και βακτηριοκτόνο (δηλαδή, πράγματι προκαλούσε θανάτωση). Έπειτα ανακάλυψε ότι προκαλεί κυτταρικές μεταβολές στους μικροοργανισμούς (λύση μεμβράνης) και διαπίστωσε ότι διαχέεται ελεύθερα και δεν καταστρέφει τα ανθρώπινα λευκοκύτταρα όπως πολλοί άλλοι αντιβακτηριακοί παράγοντες. "Ήταν η πρώτη ουσία που δοκίμασα ποτέ, η οποία ήταν ισχυρά αντιβακτηριακή, αλλά δεν κατέστρεφε τα ανθρώπινα λευκοκύτταρα, κι αυτό με έπεισε ότι κάποια μέρα, όταν θα μπορούσαμε να την απομονώσουμε σε σταθερότερη μορφή, θα χρησιμοποιούνταν για την καταπολέμηση λοιμώξεων". Η προσωπική του προσπάθεια να το επιτύχει αυτό ωστόσο απέτυχε, επειδή όπως και ο ίδιος ανέφερε, ήταν βακτηριολόγος και όχι χημικός.



Εικόνα 13. Ζωγραφιά του Alexander Fleming στο εργαστήριό του.

Εικόνα 14.

Στο *St. Mary's Hospital* στο Λονδίνο, στεγάζεται το γνωστό μουσείο του εργαστηρίου του *Alexander Fleming*, προς τιμή της συνεισφοράς του στην επιστήμη, όπου οι επισκέπτες μπορούν να «ζήσουν τον θρόνο της ανακάλυψης».



Εικόνα 15. Το τρωβλίο του Fleming που ανακάλυψε την πενικιλίνη.
National Museum of American History.



Εικόνα 16.
Το εργαστήριο του Fleming, όπως διατηρείται ακόμα και σήμερα
St Mary's Hospital, London.

ΠΑΡΑΘΕΜΑ 2

Τι είναι όμως η λυσοζύμη;

³ Είναι πολύ γνωστό ότι ο Fleming φημίζεται για την ανακάλυψη της πενικιλίνης και μάλιστα για την αξία της συμβολής του στη θεραπεία ασθενειών και την έναρξη της εποχής των αντιβιοτικών. Ωστόσο, η ουσία που ανακάλυψε και ονόμασε με το ελληνικό όνομα λυσοζύμη είναι εξίσου σημαντική. Την περίοδο των μελετών του, δεν μπορούσε να κρύψει τον ενθουσιασμό του και η πλούσια φαντασία του και ο ανυπέρβλητος ενθουσιασμός του τον συγκράτησαν προσηλωμένο. Υπήρχαν δύο βασικοί λόγοι για να λατρεύει αυτό το μόριο. Πρώτον, ήταν το πρώτο αντισηπτικό που είχε αφιερώσει πολλά χρόνια σκληρής εργασίας και αναζήτησης όπου ικανοποίησε τελικά τις απαιτήσεις του για μία ουσία, διαθέτοντας τα εξής χαρακτηριστικά: Να είναι ισχυρά και επιλεκτικά θανατηφόρα στα βακτήρια περισσότερο από ότι στα κύτταρα ζενιστές. Ο δεύτερος και πιο αγαπητός παράγοντας του Fleming ήταν το γεγονός ότι ήταν συστατικό των ανθρώπινων κυττάρων και αποτελούσε μέρος του φυσικού μηχανισμού αντίστασης του ανθρώπινου σώματος. Ως μαθητής του *Almroth Rait*, αντιμετώπιζε με ιδιαίτερο σεβασμό τους φυσικούς μηχανισμούς αντίστασης, γι' αυτό και παρέμεινε τόσο προσηλωμένος στη λυσοζύμη.

Μάλιστα, η πενικιλίνη και η λυσοζύμη παρουσίαζαν πολλές ομοιότητες. Εξάλλου, ανακαλύφθηκαν σχεδόν με τον ίδιο τρόπο, χάρη σε τυχαίες συγκυρίες, τα αποτελέσματα των οποίων ο Fleming κατάφερε να εξηγήσει με μεγάλη ακρίβεια. Μία σταγόνα από τη μύτη του Fleming που ήταν κρυωμένος, έπεσε πάνω σε ένα τρωβλίο με άγαρ όπου είχαν καλλιεργηθεί κίτρινες αποικίες ενός μολυσματικού παράγοντα και έτσι ανακαλύφθηκε η λυσοζύμη! Η σημαντική του παρατήρηση ήταν ότι αποικίες άρχισαν να εξασθενούν και κατευθείαν υποπτεύθηκε ότι η σταγόνα περιείχε κάποια λυτική ουσία, η οποία πιθανόν να βρίσκεται και σε πολλά εκκριτικά υγρά και ιστούς του σώματος. Πράγματι, η λυσοζύμη υπάρχει και στο σάλιο, τα λευκοκύτταρα, το δέρμα, το μητρικό γάλα και τα νύχια.

Lady Amalia Fleming, Cheyne Walk, London
Personal Recollections of Lysozyme and Fleming

Τόσο ο Joseph Lister, όσο και ο Ernest Duchesne (Γάλλος φοιτητής Ιατρικής), παρουσίασαν ξεχωριστά τη χρήση μούχλας πενικιλίνης σε επιδέσμους για τη θεραπεία νοσούντων κατά το τέλος του 19^{ου} αιώνα.

Οι παροτρύνσεις τους όμως αγνοήθηκαν από την επιστημονική και ιατρική κοινότητα εξαιτίας της χαμηλής ισχύος της, έως ότου ο Fleming αναζωπύρωσε το ενδιαφέρον προς αυτήν.

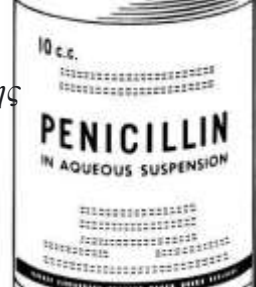
Επιπλέον, Κινέζικα ιατροφαρμακευτικά κείμενα που χρονολογούνταν έως και 300 χρόνια πριν, υποστήριζαν τη χρήση μουχλιασμένου γιαουρτιού σόγιας (γλυκίνη η αδρότριχος) ως μέσο αντιμετώπισης δερματικών μολύνσεων.

Στις αρχές της δεκαετίας του 1930, αποθαρρυνμένος από την πρόοδο που σημειώθηκε από άλλους επιστήμονες στην δική του ανακάλυψη, ο Fleming “παρέδωσε τη σκυτάλη” στον Howard W. Florey και τον Ernst B. Chain στο Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης. Η ερευνητική ομάδα του Πανεπιστημίου αυτού, συμπεριλαμβανομένων των Norman G. Heatley και Edward P. Abraham, βελτιστοποίησαν τη σύνθεση και απομόνωση της πενικιλίνης, αρκετά ώστε να διευκολυνθεί η έναρξη κλινικών δοκιμών, οι οποίες άρχισαν αμέσως να προσφέρουν πολύ ελπιδοφόρα αποτελέσματα.

Παρ’ όλα αυτά, τα αποθέματα αμιγούς πενικιλίνης ήταν τόσο λίγα, που τελικά άρχισε να γίνεται ανάκτηση από τα ούρα των ασθενών για επαναχρησιμοποίηση. Η θεαματική επιτυχία της πενικιλίνης ως αντιβιοτικός παράγοντας απέδωσε στους Fleming, Chain και Florey το Βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας και Ιατρικής το 1945.

Εν τω μεταξύ, η ανάδειξη της πενικιλίνης στη θρυλική κατάσταση που θα επέφερε αλλαγές σε όλον τον κόσμο, απαίτησε την έναρξη και την επιτυχή υλοποίηση μιας από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στις διεθνείς επιστημονικές περιπέτειες της ιστορίας, το λεγόμενο “Penicillin Project”.

Το ζέσπασμα του Δευτέρου Παγκοσμίου Πολέμου ενέτεινε το ενδιαφέρον για την πενικιλίνη. Αρκετοί επιστήμονες πάσχισαν να παραγάγουν το αντιβιοτικό σε μεγάλη κλίμακα προκειμένου να ανταποκριθούν στην υψηλή ζήτηση εξαιτίας της επιτακτικής ανάγκης που ξεπρόβαλλε για θεραπεία των πληγωμένων στρατιωτών και πολιτών που μολύνθηκαν ακολούθως. Η εγγύτητα της πρώτης γραμμής μάχης, οι επανειλημμένοι βομβαρδισμοί στο Ηνωμένο Βασίλειο και η ανάγκη για ταχεία επίλυση του προβλήματος, οδήγησαν σε ένα τεράστιο Αγγλο-Αμερικανικό συνεργατικό έργο σχετικά με το μόριο. Το Ίδρυμα Rockefeller στη Νέα Υόρκη σύστησε στον Florey και τον Heatley να έρθουν στην Αμερική το 1941 για να συναντηθούν με τον Charles Thorn, επικεφαλής μυκολόγο στο Υπουργείο Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής. Άμεσα διαμορφώθηκε μια διττή στρατηγική για την προμήθεια και την ανάπτυξη της πενικιλίνης. Η πρώτη προσέγγιση αποσκοπούσε στην αποσαφήνιση της δομής της, η οποία θα έκανε αντιληπτό τον τελικό στόχο της χημικής σύνθεσης. Περισσότερα από σαράντα διαφορετικά εργαστήρια και εκατοντάδες επιστήμονες συμπεριλήφθηκαν σε αυτό το έργο-λαβύρινθος. Η δεύτερη γραμμή επίθεσης, στόχευε στην επιπλέον βελτίωση της διεργασίας ζύμωσης στην παραγωγή του φαρμάκου. Το τελευταίο από αυτά τα κεντρικά έργα μετεγκαταστάθηκε στα Εργαστήρια Υπουργείου Γεωργίας



Sir Alexander Fleming
(1881-1955)

Ernst Boris Chain
(1906-1979)

Sir Howard Walter Florey
(1898-1968)

Εικόνα 17. Nobel Φυσιολογίας και Ιατρικής 1945.



Εικόνα 18. Φωτογραφία από βάλινο μπουκάλι πενικιλίνης.

των ΗΠΑ στην Πεόρια του Ιλινόις. Εκεί διεξήχθη εξονυχιστική έρευνα όπου αντλήθηκαν αναρίθμητες πηγές για εύρεση νέων δεδομένων: σε αυτό το εκλεκτικό πρόγραμμα, σημειώθηκε πρόοδος ακόμα και μέσω της αρωγής των ντόπιων κατοίκων που παρέδιδαν στο εργαστήριο διάφορα οικιακά απομεινάρια και τρόφιμα που είχαν μουχλιάσει, όπου υπόκειντο σε έλεγχο αναζητώντας νέα στελέχη παραγωγής πενικιλίνης.

Η τελευταία από αυτές τις δύο προσεγγίσεις, αποδείχθηκε ιδιαίτερα επικερδής. Ακόμη, εξασφαλίστηκε πολύ βελτιωμένη απόδοση το 1940, λόγω του Πενικιλίου του χρυσογόνου, (*Penicillium chrysogenum*), μία ανακάλυψη που οφείλονταν στην ευγενική παράδοση ενός κανταλούπε (*cantaloupe*, είδος πεπονιού), που έφερε στο εργαστήριο η Mary Hunt, υπάλληλος των εργαστηρίων της Πεορίας. Εντός τριών ετών, 29 φυτά πραγματοποιούσαν ζύμωση αυτού του υψηλής απόδοσης μυκητιακού στελέχους για να παραχθεί πενικιλίνη, χρησιμοποιώντας το “απότομο υγρό καλαμποκιού” (ένα παραπροϊόν της μαζικής παραγωγής καλαμποκιού στις Μεσοδυτικές Πολιτείες των ΗΠΑ) σε μία αξιοσημείωτη προσπάθεια που διοργανώθηκε από μια συγκέντρωση εξαιρετικών επιστημονικών ιδρυμάτων. Μεταξύ πολλών, περιλαμβάνονταν και οι φαρμακευτικές εταιρίες Pfizer, Merck, Squibb και Abbot, μαζί με κορυφαία Βρετανικά και Αμερικανικά ακαδημαϊκά και κυβερνητικά Ιδρύματα.



Ο General Dwight D. Eisenhower ξεκίνησε την εισβολή στην Ευρώπη από τις νότιες ακτές της Αγγλίας κατά την απόβαση στη Νορμανδία, που υποστηρίχθηκε περίπου από τρία εκατομμύρια δόσεις πενικιλίνης (αντιστοιχεί σε 300 δισεκατομμύρια μονάδες, ή περίπου 180 τόνους), συνιστώντας μια από τις πιο επικερδείς κοινοπραξίες στην ιστορία. Μονάχα το περιβόητο Πρόγραμμα Μανχάταν (*Manhattan Project*) αφοσιωμένο στον σχεδιασμό της πρώτης ατομικής βόμβας το υπερνίκησε σε σπουδαιότητα εκείνη την περίοδο. Εκτός αυτού, σε διάστημα λιγότερο από τέσσερεις μήνες, οι ερευνητές είχαν μεταβεί από την απομόνωση μικρών ποσοτήτων πενικιλίνης από ούρα ασθενών, σε ένα πρωτοφανές επίπεδο παραγωγής, όπου μονάχα το 1944 παρήχθησαν 1633 δισεκατομμύρια δόσεις πενικιλίνης. Η υπέρογκη προσπάθεια σύνθεσης που καταβλήθηκε ίσως μας είναι λιγότερο γνωστή από το Πρόγραμμα Μανχάταν, αλλά γίνεται εύκολα αντιληπτό πως αυτή η συνεργασία είχε πολύ μεγαλύτερα οφέλη για την ανθρωπότητα. Σε γενικές γραμμές, το εγχείρημα πέτυχε αξιοθαύμαστα αποτελέσματα στη βελτιστοποίηση των πρωτοκόλλων ζύμωσης και παραγωγής, επιτρέποντας μια επιτυχημένη και πρακτική προμήθεια του νέου θαυματουργού φαρμάκου, σώζοντας τελικά αμέτρητες ζωές. Η διαδικασία ωστόσο, εξακολουθούσε να βασίζεται στη φυσική βιοσύνθεση του μορίου της πενικιλίνης ως έχει, διατηρώντας το δηλαδή ανέπαφο, γεγονός που δυσχέραινε και περιόριζε τις έρευνες για παραγωγή αναλόγων βελτιωμένης δραστηριότητας.

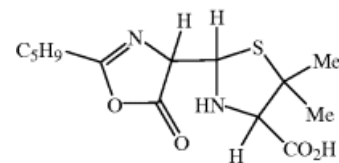
Το γεγονός αυτό συνιστούσε σημαντική τροχόπεδη, λαμβάνοντας υπόψη και τη σφοδρή αντίσταση που προέβαλλαν τα βακτήρια, ένα φαινόμενο που είχε αρχίσει να κάνει την εμφάνιση του απειλητικά. Έτσι, ήταν καθήκον των επιστημόνων η επείγουσα εξεύρεση χημικής σύνθεσης.

Εικόνα 19. Ο General Dwight G. Eisenhower (αριστερά), συζητάει με τον General Bernard Montgomery (δεξιά).

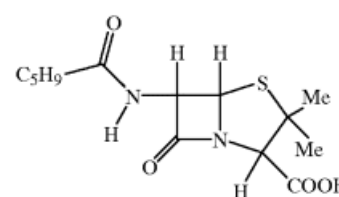
Προτού γίνει απόπειρα για χημική σύνθεση, έπρεπε να γίνει αποσαφήνιση της μοριακής δομής της πενικιλλίνης. Από τη διακαή συζήτηση μεταξύ πολλών από τους πιο καταξιωμένους χημικούς της εποχής, αναδείχθηκαν στις αρχές της δεκαετίας του 1940 δύο προτεινόμενες δομές ως πιθανοί εκπρόσωποι της “μυστικής” δομής του μορίου της πενικιλλίνης. Ο επονομαζόμενος τύπος οξαζολόνης-θειαζολιδίνης προτάθηκε από τον Sir Robert Robinson (Βραβείο Νόμπελ Χημείας, το 1945) και υπερασπίστηκε σφοδρώς από τον ίδιο, καθώς και ορισμένους άλλους αξιόλογους χημικούς όπως τον Sir John Cornforth (Βραβείο Νόμπελ Χημείας, το 1945). Ανταγωνιστής αυτής της προτεινόμενης δομής, υπήρξε αυτή της β-λακτάμης, όπου υποστηρικτές της υπήρξαν οι επιστήμονες του Merck και του άξονα του Αβραάμ και της Κίνας.

Παρά τις πειραματικές ενδείξεις για την ύπαρξη ενός δομικού μοτίβου β-λακτάμης που παρέθεσαν οι επιστήμονες του Merck, οι συμβατικές γνώσεις δεν μπορούσαν να αποδεχθούν την ύπαρξη ενός τόσο δραστικού εκτενούς μορίου που είναι συγχρόνως φυσικά απαντώμενο. Ύστερα όμως από το εξαιρετικό κρυσταλλογραφικό έργο της Dorothy Crowfoot Hodgkin διαλύθηκαν οι αμφιβολίες και η αντιπαράθεση αναχαιτίστηκε υπέρ της δομής της β-λακτάμης το 1945, λυτρώνοντας τους υποστηρικτές της. Ο αποτελούμενος από τέσσερα διαφορετικά είδη ατόμων δακτύλιος της β-λακτάμης, που αποκαλύφθηκε με μεγάλη ακρίβεια μέσω της κρυσταλλογραφίας, αναδείχθηκε και υπαίτιος για τη θανατηφόρα δράση του φαρμάκου έναντι των μικροοργανισμών. Αυτή η ιδιότητα φαίνεται να οφείλεται στη διαμόρφωση που αποκτά η πενικιλλίνη κατά την οποία το 4,5-δακτυλικό σύστημα προσαρμόζεται σε ορθογώνια διευθέτηση με το μη δεσμικό ζεύγος ηλεκτρονίων του αζώτου και τον π-δεσμό του καρβονυλίου, έτσι ώστε η σταθεροποίηση συντονισμού που επιδεικνύεται από τα παραδοσιακά αμίδια, να μη μπορεί να επιτευχθεί σε αυτήν την περίπτωση. Το χαρακτηριστικό αυτό, σε συνδυασμό με την εγγενή φύση του δακτυλίου τεσσάρων διαφορετικών ατόμων, είναι υπεύθυνα για την καρβονυλική δραστικότητα του δακτυλίου και δημιουργεί μια κατάσταση όπου η καρβονυλική λειτουργικότητα του δακτυλίου β-λακτάμης δρα ως ένας πολύ αποτελεσματικός παράγοντας ακυλίωσης, λόγω της ιδιαίτερα ισχυρής ηλεκτροφιλικότητας του.

Πίνακας 2
Οι δύο προτεινόμενες δομές. Στο πάνω τμήμα παρατίθεται η λανθασμένη, και κάτω η σωστή.



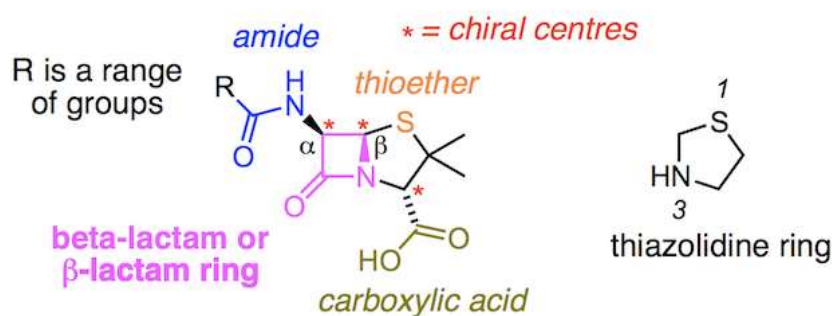
Oxazolone-thiazolidine



β-Lactam-thiazolidine

Πίνακας 1

Γενική δομή πενικιλλινών.



Επιπρόσθετα, είναι πλέον γνωστό ότι η πενικιλίνη ακυλιώνει αντιστρεπτά το ένζυμο βακτηριακή τρανσπεπτιδάση που καταλύει υπό φυσιολογικές συνθήκες μια αντίδραση σταυροδεσμών κατά την οποία ενώνονται τα τελικά αμινοξέα γλυκίνης ενός κλώνου πενταγλυκίνης, με το αμινοξύ μίας D-αλανίνης ενός γειτονικού πενταπεπτιδίου και αποτελεί το καθοριστικό βήμα για την οικοδομική σύνθεση του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος. Η ακυλίωση αναστέλλει αυτό το ένζυμο, επιφέροντας συνεπώς λύση του κυτταρικού τοιχώματος, οδηγώντας σε άμεσο θάνατο.

Σε αντίθεση με τα βακτήρια, μια φωσφολιπιδική μεμβράνη περιβάλλει τα κύτταρα των θηλαστικών, οπότε η αναστολή της τρανσπεπτιδάσης είναι απολύτως εκλεκτική μονάχα για τα βακτηριακά κύτταρα. Αποδείχθηκε ότι το μόριο αποκτά μια γενική διαμόρφωση που είναι πολύ παρόμοια με το τμήμα D-αλανίνη-D-αλανίνη του υποστρώματος που εμπλέκεται σε αυτή τη διεργασία επιμήκυνσης αλυσίδας, καθώς αποκτά επίσης και άμεση πρόσβαση στο ενεργό κέντρο του ενζύμου, με το

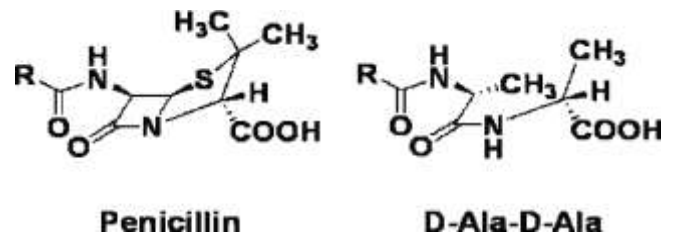
οποίο δημιουργεί σύμπλοκο.

Η βιοσύνθεση της πενικιλίνης, όπου περιέχεται ο πρωτοφανής δακτύλιος β-λακτάμης, αποσαφηνίστηκε μέσω μιας σειράς έξοχων χημικών και βιολογικών μελετών που απαιτούσαν ιδιαίτερη ευφυΐα, εκ των οποίων πολλές διεκπεραιώθηκαν από τον Sir Jack E. Baldwin και την ομάδα του στο Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης. Πέραν αυτού, ο Baldwin είναι επίσης ξακουστός για τη συνεισφορά τους στη βιομημητική σύνθεση, όπως επίσης και για ένα σύνολο κανόνων που επινόησε για να προβλέψει το αποτέλεσμα συγκεκριμένων αντιδράσεων κλεισίματος δακτυλίου.

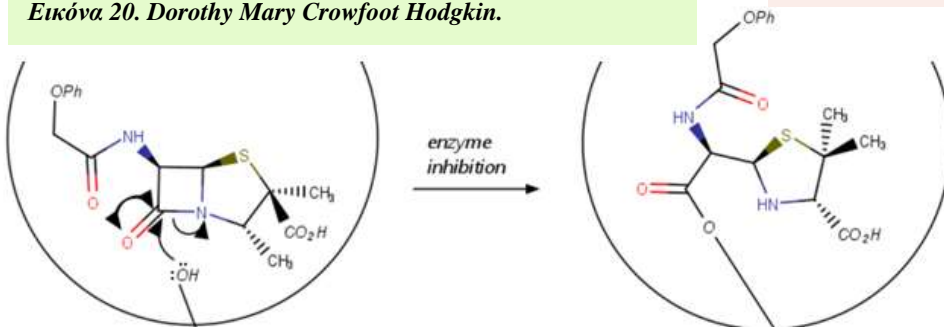
Κατά έναν ειρωνικό τρόπο, καθώς η βιολογική δραστηριότητα της πενικιλίνης οφείλεται στη χαρακτηριστική ευελιξία του λακταμικού δακτυλίου, εξαιτίας αυτής ακριβώς της ιδιότητας οι περισσότεροι χημικοί οργανικής σύνθεσης της πολεμικής περιόδου θεωρούσαν την επιδίωξη χημικής σύνθεσης σε ευρεία κλίμακα, ένα μάταιο εγχείρημα. Πράγματι, παρά την υπέρογκη προσπάθεια που καταβλήθηκε για να επιτευχθεί αυτό, τόσο πριν όσο και κατά τη διάρκεια του Δευτέρου Παγκοσμίου Πολέμου, δε γνωστοποιήθηκε καμία επιτυχής αναφορά.



Εικόνα 20. Dorothy Mary Crowfoot Hodgkin.



Εικόνα 21. Σύγκριση δομής πενικιλίνης και αλληλουχίας D-αλανίνης-D-αλανίνης.




Ένζυμο τρανσπεπτιδάση ενεργό κέντρο

Ακυλιωμένο, απενεργοποιημένο ένζυμο

Εικόνα 22. Μηχανισμός αναστολής βακτηριακής τρασπεπτιδάσης.

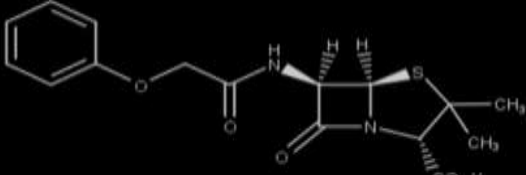
Πράγματι, οι δυσκολίες συνέχιζαν να αποτελούν ανυπέρβλητο κώλυμα έως το 1957, όπου ο John C. Sheehan στο Πανεπιστήμιο Τεχνολογίας της Μασαχουσέτης (ΗΠΑ) ανακοίνωσε τον θρίαμβο της τελικής σύνθεσης της πενικιλίνης V, ύστερα από μία αδιάκοπη και ατελείωτη καμπάνια που διήρκησε συνολικά 10 ολόκληρα χρόνια. Η πανηγυρική επιτυχία του Sheehan οφείλονταν στην καινοτόμα και τολμηρή του προσέγγιση. Από πολύ νωρίς, είχε αναγνωρίσει ότι το βασικό εμπόδιο που έπρεπε να υπερνικηθεί πριν από οποιαδήποτε ολική σύνθεση του φαρμάκου ήταν η κατασκευή του ιδιαίτερα τεταμένου και ευαίσθητου δακτυλίου. Εκτός αυτού, είχε πλέον συνειδητοποιήσει πως έπρεπε να βρεθεί κατάλληλη μέθοδος για να επιτευχθεί η τροποποίηση του δακτυλίου, καθώς κανένα από τα διαθέσιμα τεχνολογικά μέσα δεν αρκούσε για την πρόκληση αυτή. Η διορατικότητα του Sheehan και η ξεχωριστή νοοτροπία του εξασφάλισε τη νίκη της ομάδας του. Η σύλληψη και υλοποίηση της ανάπτυξης του N,N'δικοκλωεξυλο-καρβοδιλμιδίου (DCC), μέσω μεσολαβούμενης σύζευξης καρβοξυλικών οξέων με αμίνες κατέστησε οικονομικώς προσιτά τα αμίδια. Με εφαρμογή στην ενδομοριακή εκδοχή (όπου η αμίνη και το οξύ ανήκουν στο ίδιο μόριο) σε μία ενεργή πρόδρομη ένωση, η μέθοδος αυτή θα αντιμετώπιζε μία από τις πιο ατίθασες καταστάσεις χημικής συνθέσεως των δεκαετιών 1940-1950, την οικοδόμηση του δακτυλίου της β-λακτάμης. Η (DCC)-μεσολαβούμενη σύζευξη εδραιώθηκε ακολούθως για την τροποποίηση του εστερικού δεσμού, διατηρώντας τον τίτλο ενός ισχυρού εργαλείου της τότε σύγχρονης οργανικής σύνθεσης, αποτελώντας πηγή έμπνευσης για παρόμοιες αντιδράσεις. Η καινοτομία αυτή δεν ήταν όμως η μοναδική κατά την πενικιλινική σύνθεση: η φθαλοϋλο-προστατευτική ομάδα για πρόδρομες αμίνες ήταν μία ακόμα βαρυσήμαντη συνεισφορά αναδυόμενη από τη συγκεκριμένη ομάδα.

Έχοντας στην κατοχή τους αυτά τα πρωτοποριακά εφόδια, ήταν πλέον σε θέση να ολοκληρώσουν την παραγωγή του έως τώρα απροσπέλαστου στόχου μέσω της διεργασίας που απεικονίζεται συνοπτικώς στον Πίνακα 1. Συνεπώς, η σύζευξη μίας φθαλοϋλο-προστατευμένης αμινοαλδεϋδης με μία κατάλληλη αμινοθειόλη οδήγησε στην δόμηση του θειαζολικού δακτυλίου της πενικιλίνης. Η περαιτέρω επεξεργασία κατέληξε σε ένα προηγμένο ενδιάμεσο αμινοξέος που χρησίμευε ως πρόδρομο του δακτυλίου λακτάμης της πενικιλίνης V. Αυτό το ενδιάμεσο υπό τις συνθήκες (DCC) σύζευξης του Sheehan παρείχε το μετά καλίου άλας της πενικιλίνης V. Κατά αυτόν τον τρόπο λοιπόν επιτεύχθηκε η πρώτη απόλυτη σύνθεση του φαρμάκου, συνιστώντας ένα επίτευγμα ορόσημο της συνθετικής διαδικασίας. Αυτό το κατόρθωμα σηματοδότησε τη γέννηση μίας εξαιρετικά παραγωγικής εποχής στη σύνθεση παραγώγων β-λακτάμης, πολλά εκ των οποίων συντέθηκαν στην πορεία, αλλά αντιπροσώπευε επίσης την προσθήκη μίας νέας διάστασης στις συνολικές προσπάθειες σύνθεσης, εκείνη της επιδίωξης να εφευρεθούν νέες συνθετικές τεχνολογίες.



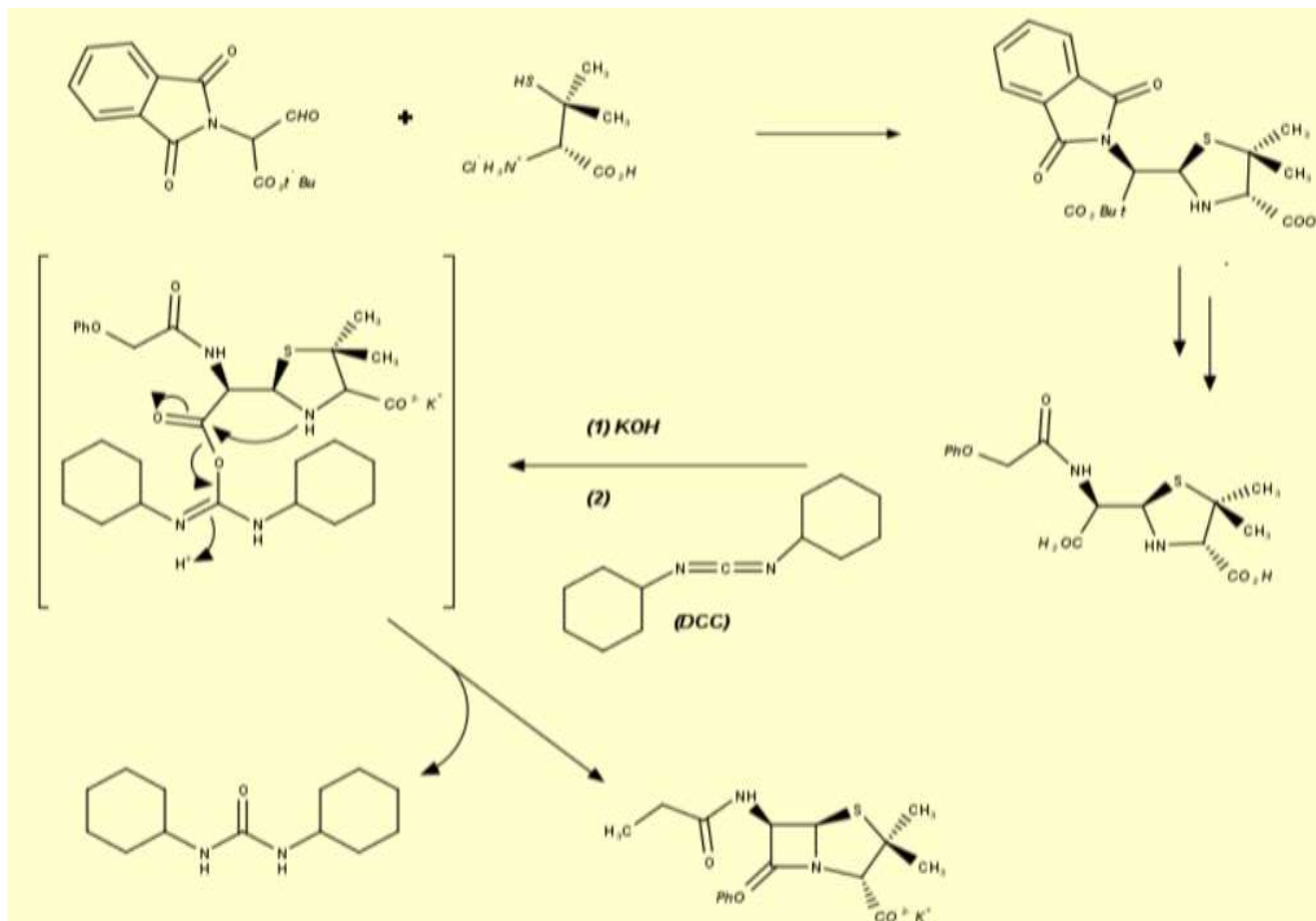
ΠΑΡΑΘΕΜΑ 3

“Τη στιγμή που συνέθεσα επιτυχώς την Πενικιλίνη V το 1957, παρομοίωσα τη δυσκολία σύνθεσης μέσω κλασικών μεθόδων με την προσπάθεια να επισκευάσεις το κύριο ελατήριο ενός ρολογιού, χρησιμοποιώντας μόνο ένα σιδερένιο αμόνι, σφυρί και λαβίδες.”
John C. Sheehan.



Penicillin V

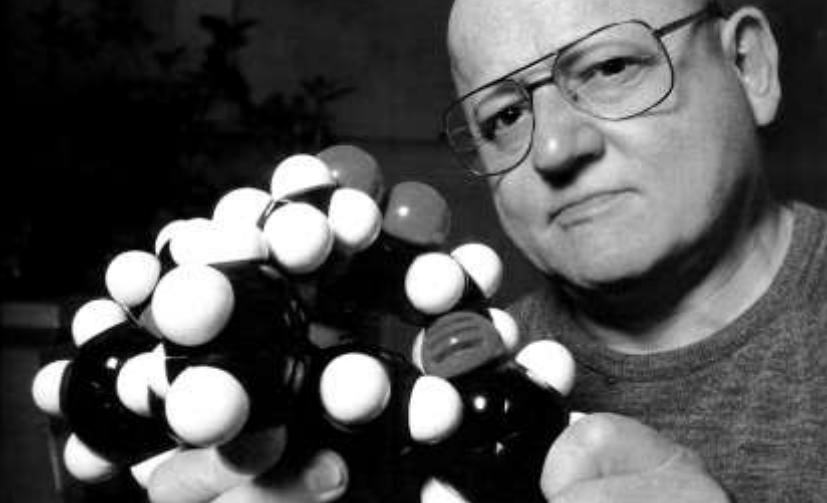
Πίνακας 3.



Η πενικιλίνη εισήγαγε μία καινούργια εποχή στην έρευνα αντιβιοτικών, που εξελίχθηκε αλματωδώς στα χρόνια που ακολούθησαν. Μία σειρά φυσικά απαντώμενων β-λακταμικών δακτυλίων, όπως για παράδειγμα κεφαλοσπορίνη και κλαβουλονικό οξύ εκδόθηκαν ταχύτατα ως εμπορικά φάρμακα και οι προσπάθειες των συνθετικών χημικών επιδόθηκαν στη σύνθεση πρόσφατα ανακαλυφθέντων φυσικών προϊόντων και στην τροποποίηση της δομής τους, επιδιώκοντας την εύρεση νέων αντιβακτηριακών παραγόντων με βελτιωμένες φαρμακολογικές ιδιότητες. Συνεπώς οδηγήθηκαν σε μία εξίσου αξιοθαύμαστη συλλογή ημισυνθετικών β-λακταμικών αντιβιοτικών, μεταξύ των οποίων η αμικικιλίνη, η αμοξυκιλλίνη και η μεθικιλίνη.



Εικόνα 23.
Διάγραμμα κορδέλας συνθάσης της Ν-ισοπενικιλίνης.



Εικόνα 24 . Φωτογραφία του Sir Jack E. Baldwin.

Κατά τη διάρκεια αυτής της «Χρυσής Εποχής των αντιβιοτικών» ωστόσο προέκυψαν κάποιες αναπάντεχες καταστάσεις. Η εκτεταμένη διάδοση τους, και σε ορισμένες περιπτώσεις η κατάχρησή τους συνέβαλλε στην ταχύτατη ανάπτυξη και εξάπλωση βακτηριακών στελεχών που διέθεταν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά. Μία νέα δυσοίωνη απειλή προέβαλλε επιθετικώς για την ανθρωπότητα! Η ικανότητα ορισμένων βακτηριακών στελεχών να αντιστέκονται έναντι των αντιβιοτικών β-λακτάμης οφείλεται στην παραγωγή του ενζύμου β-λακταμάσης, το οποίο διασπά τον δακτύλιο, απενεργοποιώντας έτσι τα μόρια προτού φτάσουν στο σημείο δράσης τους. Για την καταπολέμηση αυτών των νέων εχθρών, οι επιστήμονες αναζήτησαν και ανέπτυξαν ποικίλους ισχυρότατους αντιβακτηριακούς παράγοντες, όπου μερικοί αποτελούσαν φυσικά προϊόντα, ενώ άλλοι ανθρωπογενή σχέδια.



Εικόνα 26. Σκευάσματα πενικιλίνης ύστερα από την ανακάλυψη της και την έγκρισή της ως ασφαλές φαρμακευτικό προϊόν.



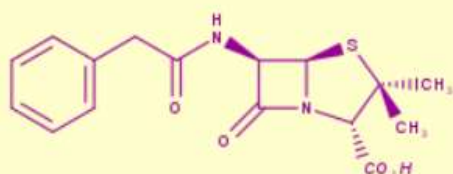
Εικόνα. 25. Συμβολική εικόνα για τη σημασία του έργου της επιστήμης για την ανθρωπότητα.

Ολοκληρώνοντας αυτή τη διήγηση, θεωρείται σκόπιμο να τονισθεί για μία ακόμα φορά η σπουδαιότητα της ανακάλυψης της πενικιλίνης, η οποία αποτέλεσε ένα ορόσημο για τις ιατρικές ανακαλύψεις, διέσωσε αναρίθμητες ανθρώπινες ζωές και καταπράυνε τον ανθρώπινο πόνο. Με την ανακάλυψη και την επιτυχή σύνθεση της, οι επιστήμονες απέκτησαν έναν νέο πολύτιμο θησαυρό που άνοιξε νέους ορίζοντες για διερεύνηση βιολογικά ενεργών μορίων. Αναμφισβήτητα, πολλά πανομοιότυπα μόρια έχουν εντοπισθεί από τότε στο έδαφος και σε περιβάλλοντα όπου είναι παρόντα άφθονα βακτήρια και μύκητες, και των οποίων η συγκομιδή οδήγησε σε ακόμα περισσότερες “μαγικές σφαίρες” και φάρμακα αξίας δισεκατομμυρίων δολλαρίων.

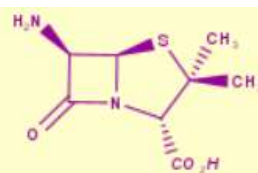


Εικόνα 27. Χρησιμοποιούμενα σκευάσματα πενικιλίνης ακόμα και σήμερα.

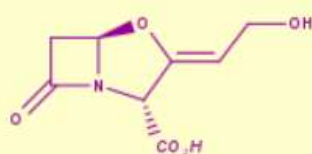
Πίνακας 4
Δομές Πενικιλινών.



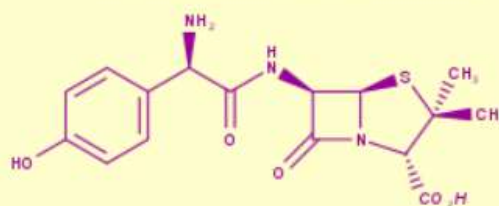
πενικιλίνη G
 (φυσικά απαντώμενη)



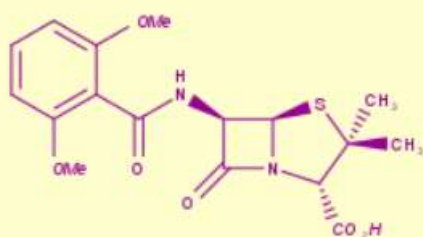
6-αμινοπενικιλλανικό οξύ
 (φυσικά απαντώμενο)
 (βιομηχανικό προϊόν προερχόμενο από
 V και G πενικιλίνες μέσω δράσης του
 ενζύμου αμιδάση της πενικιλίνης)



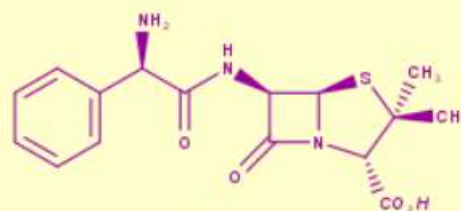
κλαβουλονικό οξύ (φυσικά
 απαντώμενο) ασθενής
 αντιβακτηριακή δράση. συνήθως
 συνδυάζεται με αμοξικιλίνη



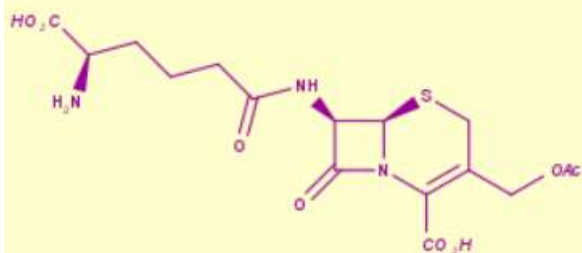
αμοξικιλίνη
 (ημισυνθετική)



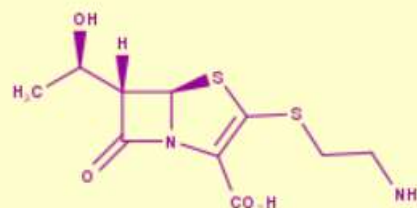
μεθικιλίνη
 (ημισυνθετική)



αμπικιλίνη
 (ημισυνθετική)



κεφαλοσπορίνη C
 (φυσικά απαντώμενη)



θείναμικίνη
 (φυσικά απαντώμενη)



~ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ~

¹*“Molecules that changed the world”*

*Prof. Dr. K. C. Nicolaou/ Department of Chemistry, The Scripps Research
Institute*

1055 North Torrey Pines Road

La Jolla, CA, 92037

USA

&

Department of Chemistry and Biochemistry, University of California, San Diego

Gilman Drive 9500,

La Jolla, CA, 92093

USA

Dr. Tamsyn Montagnon/Department of Chemistry, University of Crete

Vasilika Vouton, 71003, Heraklion, Crete, Greece

²*Penicillin: Its Discovery and Early Development*
B. Lee Ligon, PhD

³*Personal Recollections of Penicillin and Fleming*
Lady Amalia Fleming, Cheyne Walk, London