Ευχαριστίες

Ευχαριστώ την κα. Αναστασία Δέτση για την ανάθεση του θέματος και την πολύτιμη βοήθεια χωρίς την οποία, αυτή η εργασία αυτή δεν θα έφθανε στο τέλος της.

Επίσης ευχαριστώ τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, κα Κ. Κόλλια, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΜΠ και τον κο Σ. Χαμηλάκη, Επίκουρο Καθηγητή ΕΜΠ, για την κριτική ανάγνωση του κειμένου και τις εύστοχες υποδείξεις τους για τη βελτίωση και διόρθωση του κειμένου.

Περιεχόμενα

- ***Περίληψη*** *σελ. 3*
- ***Κεφάλαιο 1: εισαγωγή στα χαρακτηριστικά των φυσικών προϊόντων*** *σελ. 4*
- ***Κεφάλαιο 2: φυσικά προϊόντα από φυτικές πηγές και το θαλάσσιο περιβάλλον*** *σελ. 17*
- ***Κεφάλαιο 3: ανάπτυξη φαρμάκων από φυσικά προϊόντα: προσεγγίσεις της συνθετικής οργανικής χημείας*** *σελ. 36*
- ***Κεφάλαιο 4: ολική σύνθεση φυσικών προϊόντων: μια πρόκληση για την συνθετική οργανική χημεία*** *σελ.48*
- ***Κεφάλαιο 5: ημισύνθεση φυσικών προϊόντων*** *σελ. 60*
- ***Κεφάλαιο 6:υπόλοιπες προσεγγίσεις στον σχεδιασμό και την ανακάλυψη φαρμάκων*** *σελ 69*
- ***Συμπεράσματα*** *σελ.80*
- ***Βιβλιογραφία*** *σελ.81*

Περίληψη

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί η εκτενής αναφορά και παρουσίαση των φυσικών προϊόντων και των χαρακτηριστικών τους, από τα οποία επιστήμονες σε πολλούς τομείς εμπνέονται ώστε να δημιουργήσουν καινούργια φαρμακευτικά παρασκευάσματα ή να συνεισφέρουν στον σχεδιασμό και την ανακάλυψη φαρμάκων. Αρχικά, γίνεται μια εισαγωγή στα χαρακτηριστικά των δευτερογενών μεταβολιτών που τα καθιστούν ουσίες με αμείωτο ενδιαφέρον για την φαρμακευτική. Εν συνεχεία, γίνεται μια ομαδοποίηση τους με βάση τον οργανισμό από τον οποίο προέρχονται και κατηγοριοποίηση τους στην οργανική χημεία ενώ γίνεται αναφορά στις προσεγγίσεις της οργανικής χημείας στην σύνθεση «παρομοίων» ενώσεων. Επιπροσθέτως, παρουσιάζονται παραδείγματα παρασκευής κάποιων φυσικών προϊόντων μέσω των προαναφερθέντων προσεγγίσεων ενώ, τέλος αναφέρονται κάποιες νέες προσεγγίσεις που στοχεύουν σε στην δημιουργία συγκεκριμένων χαρακτηριστικών των φυσικών προϊόντων.

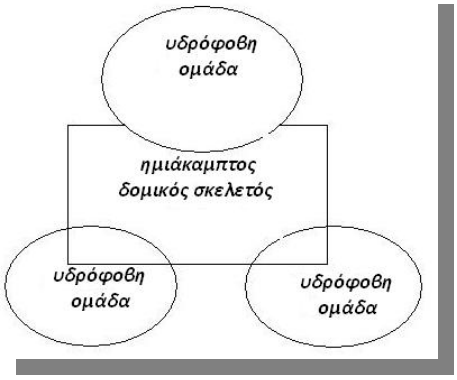
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Εισαγωγή στα χαρακτηριστικά των φυσικών προϊόντων

Φυσικό προϊόν ονομάζεται μια χημική ένωση ή ουσία που παράγεται από έναν ζωντανό οργανισμό που βρίσκεται στην φύση και συνήθως έχει μια φαρμακολογική ή βιολογική δραστηριότητα που μπορεί να φανεί χρήσιμη στην ανακάλυψη και τον σχεδιασμό φαρμάκων. Χημικές ουσίες που προέρχονται από τα ζώα, τα φυτά και τα μικρόβια έχουν χρησιμοποιηθεί για την θεραπεία ανθρώπινων ασθενειών από την αρχή της επιστήμης της ιατρικής. Η έρευνα των φυσικών προϊόντων ως πηγή καινοτόμων θεραπευτικών, για τον άνθρωπο, έφτασε στο απόγειο της στην Δυτική φαρμακευτική βιομηχανία την περίοδο 1970-1980. Το αποτέλεσμα ήταν η μεγάλη παρουσία μη-συνθετικών μορίων στον τομέα της φαρμακοβιομηχανίας.

Ιστορικά, για τέσσερις περίπου δεκαετίες μεγάλο αντικείμενο της χημείας και πιο συγκεκριμένα της οργανικής χημείας αποτέλεσε, η απομόνωση αυτών των ενώσεων, ο διαχωρισμός τους, η έρευνα πάνω σε αυτές και πολυετείς μελέτες και δοκιμές με σκοπό την χρήση τους πάνω στο ανθρώπινο γένος και την καταπολέμηση μεγάλου αριθμού παθήσεων.

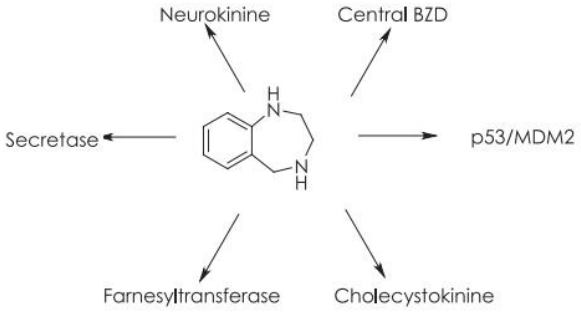
Αναλυτικότερα, βασικό στοιχείο των φυσικών προϊόντων που τα κατέστησε ενώσεις μεγάλης σημασίας για να μελετηθούν, είναι το γεγονός ότι πολλά από αυτά αποτελούν '*προνομιακές δομές*' : ο ορισμός των 'προνομιακών δομών' κατά IUPAC αναφέρει ότι είναι 'οι *δομές που αποτελούνται από ένα ημιάκαμπτο δομικό σκελετό (scaffold) ο οποίος είναι σε θέση να διαθέτει πολλαπλούς υδρόφοβους υποκαταστάτες χωρίς να υποβάλλεται σε υδρόφοβη κατάρρευση'.* Επομένως, σύμφωνα με τον ορισμό, ο κοινός «δομικός παρονομαστής» των προνομιακών δομών είναι η παρουσία ενός ημιάκαμπτου δομικού σκελετού που παρουσιάζει φαρμακοφόρα και πιθανόν υδρόφοβα χαρακτηριστικά στην περιφέρεια του (εικόνα 2). Η περιορισμένη ευελιξία του σκελετού εμποδίζει την υδρόφοβο κατάρρευση, όταν η ένωση εκτίθεται σε υδατικό μέσο : ως εκ τούτου διατηρεί σε μεγάλο ποσοστό τη δυνατότητα δέσμευσης στο μόριο-στόχο.



Εικόνα 1. *σχηματική αναπαράσταση προνομιακής δομής*

Επιπροσθέτως εκτός από την αποτροπή μιας υδρόφοβης κατάρρευσης, αποκρύπτοντας μέρος της επιφάνειας του μορίου λόγω αλληλεπίδρασης με το στόχο, η περιορισμένη ευελιξία μειώνει το εντροπικό κόστος στην ισορροπία δέσμευσης, αυξάνοντας έτσι την ελεύθερη ενέργεια δέσμευσης και τη συγγένεια με τον στόχο.

Ο όρος προνομιακή δομή αντικατοπτρίζει την ικανότητα συγκεκριμένων μορίων να φιλοξενούν διάφορα φαρμακοφόρα τμήματα και επομένως να εμφανίζονται σε δομές διαφόρων δραστικών ενώσεων. Ένα παράδειγμα της λεγόμενης προνομιακής δομής αποτελεί ο δομικός σκελετός της βενζοδιαζεπίνης που είναι αναγνωρίσιμο σε πολλές σειρές βιοδραστικών ενώσεων. [1]



Εικόνα 2. *δομή της βενζοδιαζεπίνης και μερικοί στόχοι της*[1]

Τα φυσικά προϊόντα ανέκαθεν είχαν σημαντικό ρόλο στην επιστήμη της φαρμακευτικής και ιδιαίτερα στον σχεδιασμό φαρμάκων. Ακόμη και σήμερα πολλοί δευτερογενείς μεταβολίτες υπόκεινται σε συνεχείς κλινικές δοκιμές ώστε να διαπιστωθεί αν μπορεί να χορηγηθεί σε ασθενείς, με την μορφή συγκεκριμένου παρασκευάσματος.

Οι *κλινικές δοκιμές* πραγματοποιούνται ώστε να συλλεχθούν ασφαλή και αποτελεσματικά δεδομένα για παρεμβάσεις στον τομέα της υγείας (όπως πχ τα ναρκωτικά, οι ιατρικές συσκευές, διάφορα πρωτόκολλα θεραπείας). Οι δοκιμές μπορούν να πραγματοποιηθούν, μετά την συλλογή ικανοποιητικών πληροφοριών σχετικά με τις προκλινικές δοκιμές και αφού η σχετική επιτροπή υγείας και δεοντολογίας δώσει έγκριση.

Ανάλογα με το είδος του προϊόντος και το στάδιο ανάπτυξης του, οι ερευνητές εγγράφουν υγιείς εθελοντές ή/και ασθενείς σε μικρές πιλοτικές μελέτες οι οποίες ακολουθούνται από μεγαλύτερης κλίμακας δοκιμές, σε ασθενείς που συγκρίνουν συχνά το προϊόν με την παρούσα προδιαγραφόμενη θεραπεία. Οι κλινικές δοκιμές μπορεί να ποικίλλουν σε μέγεθος από ένα κέντρο σε μία χώρα έως πολύκεντρες δοκιμές σε πολλές χώρες.

Οι κλινικές δοκιμές που αφορούν τα νέα φάρμακα, διαχωρίζονται συνήθως σε 4 φάσεις. Κάθε φάση της διαδικασίας έγκρισης του εν δυνάμει φαρμάκου, αντιμετωπίζεται ως ξεχωριστή κλινική δοκιμή. Η διαδικασία αναπτύσσεται με τις τέσσερις φάσεις κατά την διάρκεια πολλών ετών. Αν το φάρμακο δώσει θετικά αποτελέσματα στις φάσεις I,II και III συνήθως θα πρέπει να εγκριθεί από την εθνική ρυθμιστική αρχή για χρήση στον γενικό πληθυσμό. Η φάση IV αποτελείται από μελέτες πάνω στα φάρμακα που έχουν εγκριθεί ήδη (post approval trials). Οι φαρμακευτικές εταιρίες πριν αρχίσουν κλινικές δοκιμές, διεξάγουν εκτεταμένες προκλινικές μελέτες.

Προκλινικές δοκιμές

Οι δοκιμές σε αυτό το στάδιο περιλαμβάνουν in vitro (σε δοκιμαστικό σωλήνα ή κυτταροκαλλιέργεια) και in vivo (σε ζώα) πειράματα, στις οποίες χρησιμοποιούνται μεγάλες δόσεις του φαρμάκου για την απόκτηση προκαταρκτικής αποτελεσματικότητας, τοξικότητας και πληροφορίες σχετικά με την φαρμακοκινητική. Αυτές οι δοκιμές βοηθούν τις φαρμακευτικές εταιρίες να αποφασίσουν εάν ένα υποψήφιο φάρμακο έχει επιστημονική αξία για την περαιτέρω ανάπτυξη ως ένα δοκιμαζόμενο νέο φάρμακο.

Φάση Ι

Οι δοκιμές της φάσης αυτής αποτελούν το πρώτο στάδιο των δοκιμών σε ανθρώπους. Συνήθως μια μικρή ομάδα από υγιείς εθελοντές (20-100 άτομα) επιλέγονται : οι δοκιμές αποσκοπούν να αξιολογήσουν την ασφάλεια, την ανεκτικότητα, την φαρμακοκινητική και τις δυναμικές του φαρμάκου. Το υποκείμενο που λαμβάνει το φάρμακο παρακολουθείται μέχρι να περάσουν χρονικά αρκετές ημιζωές του φαρμάκου. Επίσης, οι δοκιμές της φάσης Ι περιλαμβάνουν την εύρεση της κατάλληλης ποσότητας (δόσης). Αν και συνήθως οι μελέτες γίνονται πάνω σε υγιείς εθελοντές, υπάρχουν περιπτώσεις που χρησιμοποιούνται πραγματικοί ασθενείς όπως π.χ ασθενείς με HIV ή ασθενείς με καρκίνο σε τερματικό στάδιο, δηλαδή ασθενείς για τους οποίους ελλείπονται άλλες θεραπείες. Σκοπός της φάσης αποτελεί η ανακάλυψη του σημείο, στο οποίο η ένωση είναι δηλητηριώδης, λόγω μεγάλης ποσότητας, για να χορηγηθεί σε άνθρωπο.

Φάση ΙΙ

Οι δοκιμές της φάσης ΙΙ εκτείνονται σε μεγαλύτερες ομάδες (20-300 άτομα) και έχουν σχεδιαστεί για να αξιολογήσουν πόσο καλά λειτουργεί το φάρμακο, όπως και να συνεχίσουν τις αξιολογήσεις της ασφαλούς χρήσης του φαρμάκου (που λαμβάνουν χώρα στην φάση Ι) σε μια μεγαλύτερη ομάδα εθελοντών και ασθενών.

Όταν η διαδικασία ανάπτυξης ενός νέου φαρμάκου αποτύχει, και αυτό συμβαίνει συνήθως κατά την διάρκεια της φάσης ΙΙ, τότε το φάρμακο διαπιστώνεται

να λειτουργεί διαφορετικά σε σύγκριση με τον αρχικό σχεδιασμό ή ακόμη και να έχει τοξικές επιδράσεις.

Φάση ΙΙΙ

Οι δοκιμές της φάσης αυτής αποτελούν ελεγχόμενες δοκιμές σε πολυκέντρα σε μεγάλες ομάδες ασθενών (300-3000 άτομα ή περισσότερα ανάλογα με την ερευνώμενη ασθένεια/ιατρική κατάσταση) και στοχεύουν σε μια οριστική εκτίμηση του πόσο αποτελεσματικό είναι το εν δυνάμει φάρμακο. Δεδομένης της σχετικά μεγάλης χρονικής διάρκειας αυτής της φάσης, οι δοκιμές είναι ακριβές και δύσκολες ως προς τον σχεδιασμό και την εκτέλεση, ειδικότερα σε θεραπείες για την αντιμετώπιση χρόνιων παθήσεων.

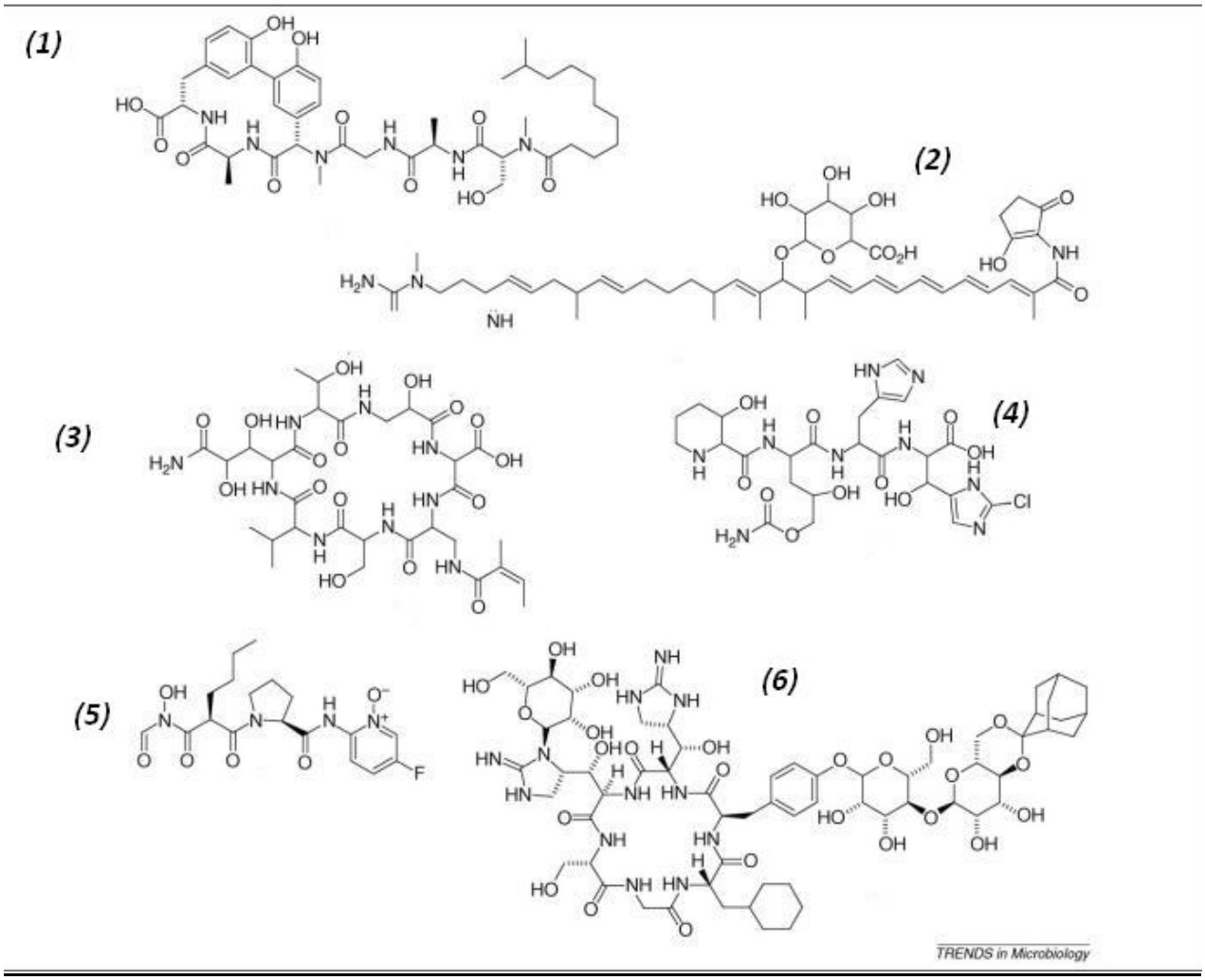
Ενόσω η ένωση, εν δυνάμει φάρμακο, ερευνάται με σκοπό να υποβληθεί και στην αγορά, οι ασθενείς λαμβάνουν ταυτόχρονα και φάρμακα της θεραπείας τους.

Αν και δεν απαιτείται σε όλες τις περιπτώσεις συνήθως αναμένεται να πραγματοποιηθούν τουλάχιστον δύο επιτυχημένες δοκιμές σε αυτή την φάση ώστε να αποδειχθεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του φαρμάκου, προκειμένου να πάρει έγκριση από τις αρμόδιες ρυθμιστικές υπηρεσίες, όπως η FDA (ΗΠΑ) και η EMAC (Ευρωπαϊκή Ένωση).[2][3]

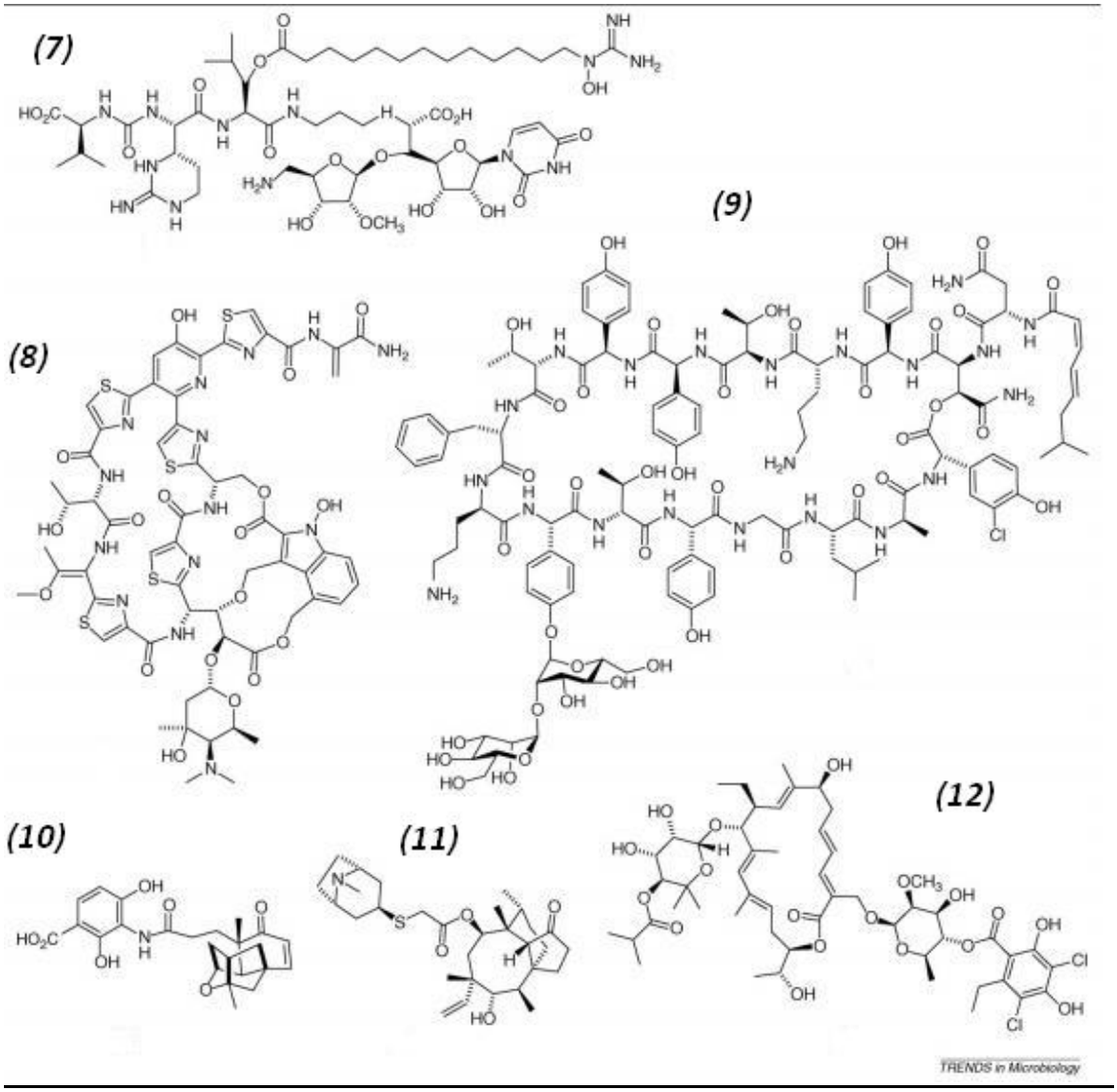
Στους πίνακες 1 και 2 αναφέρονται κάποια φυσικά προϊόντα, ο οργανισμός από τον οποίο εξήχθησαν και το στάδιο των δοκιμών στο οποίο βρίσκονται ενώ στην συνέχεια απεικονίζονται οι μοριακές δομές τους.

Πίνακας 1.φυσικά προϊόντα, μικροβιακής προέλευσης, προς ανάπτυξη αντιμικροβιακών παραγόντων (οι αντίστοιχες δομές παρουσιάζονται στις Εικόνες 3 και 4)[4]

Φυσικό προϊόν	***Εξαγόμενη πηγή***	***Στάδιο δοκιμών***
Arylomicin (1)	στρεπτομύκητας	προκλινική
ECO-05001(2)	βακτήριο γένους *Amycolatopsis*	προκλινική
GE23077(3)	βακτήριο γένους *Actinomadura*	προκλινική
GE81112(4)	στρεπτομύκητας	προκλινική
LBM415(5)	στρεπτομύκητας	φάση I
AC98-6446(6)	στρεπτομύκητας	προκλινική
Muraymicin(7)	στρεπτομύκητας	προκλινική
Nocathiacins(8)	βακτήριο γένους Nocardia	προκλινική
Ramoplanin(9)	βακτήριο γένους Actinoplane	φάση II
Platensimycin(10)	στρεπτομύκητας	προκλινική
Retapamulin(11)	μικροοργανισμός γένους pleurotus	φάση III
Tiacumicin B(12)	άλγος γένους dactylosporangium	φάση II



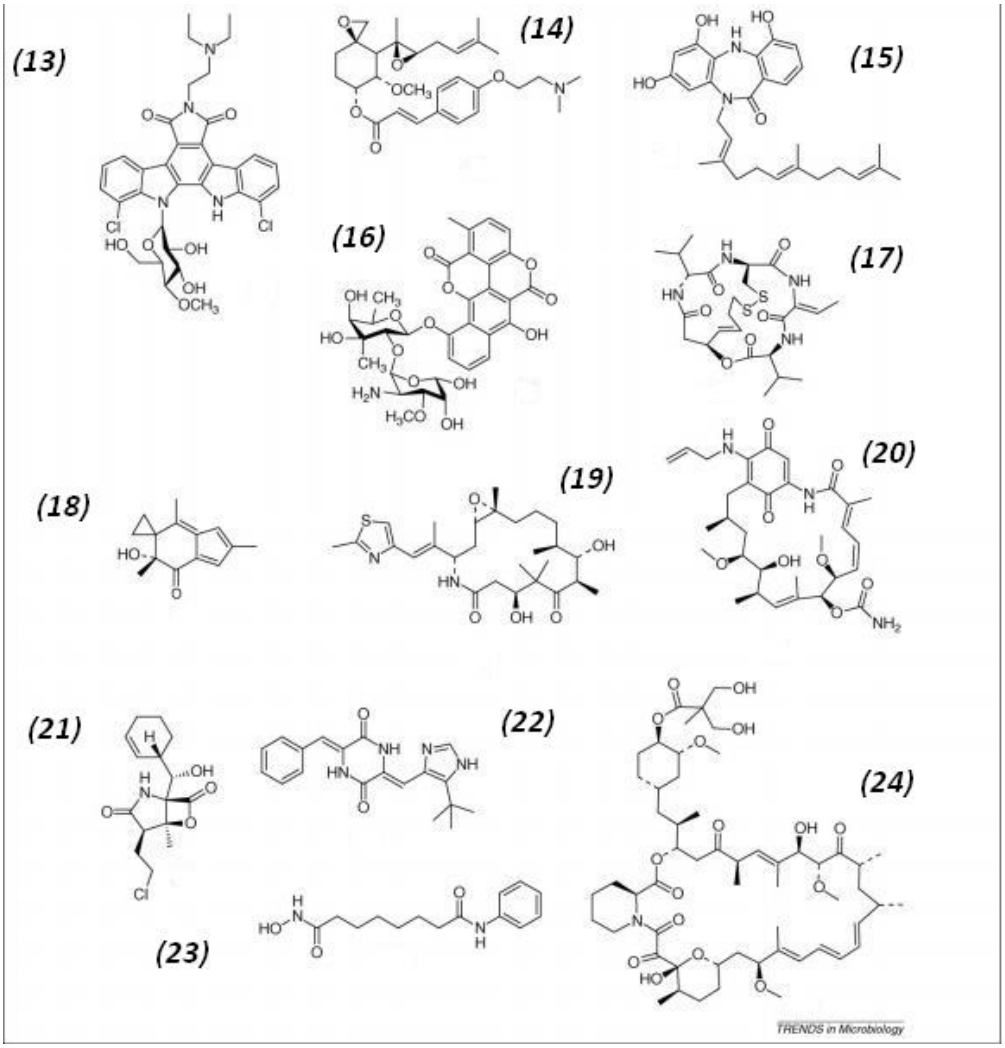
Εικόνα 3. *Δομές φυσικών προϊόντων που αναφέρονται στον Πίνακα 1*[4]



Εικόνα 4. Δομές φυσικών προϊόντων που αναφέρονται στον Πίνακα 1[4]

Πίνακας 2. ***φυσικά προϊόντα, μικροβιακής προέλευσης που υπόκεινται σε κλινικές μελέτες για την ανάπτυξη αντικαρκινικών παραγόντων (οι αντίστοιχες δομές παρουσιάζονται στην Εικόνα 5)***[4]

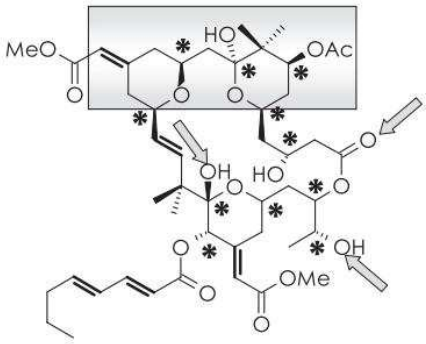
Φυσικό προϊόν	***Εξαγόμενη πηγή***	***Στάδιο δοκιμών***
Becatecarin(13)	ακτινομύκητας	φάση III
CDK-732(14)	μύκητας του γένους *Aspergillus*	φάση II
ECO-4601(15)	βακτήρια του γένους *Micromonospora*	φάση I
Elsamitrucin(16)	ακτινομύκητας	φάση II
Irofulven(17)	μύκητας του γένους *Clitocybe*	φάση II
Ixabepilane(18)	βακτήριο *Sorangium cellulosum*	φάση III
KOS-953(19)	στρεπτομύκητας	φάση II
NPI-0052(20)	θαλάσσιος ακτινομύκητας	φάση I
NPI-2358(21)	μύκητας του γένους *Aspergillus*	φάση I
Romidepsin(22)	βάκιλος *Chromobacterium violaceum*	φάση II
Vorinostat(23)	στρεπτομύκητας	φάση II
Temsirolimus(24)	στρεπτομύκητας	φάση III



Εικόνα 5. *Δομές φυσικών προϊόντων που αναφέρονται στον Πίνακα 2*[4]

Όπως φαίνεται και από τις δομές των προαναφερθέντων φυσικών προϊόντων κάποια μόρια έχουν εξαιρετικά πολύπλοκες δομές ενώ άλλα είναι αρκετά μεγάλα. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα πολυπλοκότητας της δομής αποτελούν οι βρυοστατίνες, μια ενδιαφέρουσα ομάδα ενώσεων που εμφανίζουν ισχυρή αντικαρκινική δραστικότητα. Όπως φαίνεται και από την παρακάτω εικόνα, από τα 61 άτομα της βρυοστατίνης-Ι , μόνο τα 25 από αυτά συμμετέχουν στο *φαρμακοφόρο μοτίβο* (κατά IUPAC *φαρμακοφόρο τμήμα* αποτελεί το σύνολο στερεοχημικών και ηλεκτρονικών στοιχείων που θεωρούνται αναγκαία για την

διασφάλιση των βέλτιστων υπερμοριακών αλληλεπιδράσεων με συγκεκριμένο βιολογικό στόχο αλλά και την πρόκληση ή παρεμπόδιση βιολογικής απάντησης).



Εικόνα 6. *Βρυοστατίνη-1 :φαρμακοφόρα άτομα (δείχνονται μέσα στο κουτί και με βελάκια) , διπλοί δεσμοί και στερεοχημικά κέντρα (οι άνθρακες τους δείχνονται με αστερίσκο)* [1]

Επιπλέον, μεταξύ των χαρακτηριστικών που δεν συμμετέχουν στην δέσμευση της βρυοστατίνης με τον στόχο, βρίσκονται 11 στερεοχημικά κέντρα και πέντε διπλοί δεσμοί : δεδομένο που αποτελεί εμπόδιο για την φαρμακευτική χημεία. Τελικά αποδεικνύεται ότι η βρυοστατίνη, αν και δραστική ένωση στην πραγματικότητα δεν είναι μια αποτελεσματικά δεσμευτική ένωση Ένας απλός τρόπος να μετρηθεί η αποδοτικότητα της δέσμευσης (binding efficiency) ενός μορίου, περιγράφεται από τον Zapatero και τους συνεργάτες του : ο λόγος pKi προς το μοριακό βάρος (BEI) και η περιοχή πολικής επιφάνειας (SEI), αποτελούν ποσοστιαίοι δείκτες της ατομικής δομής που χρησιμοποιείται επαρκώς για την σύνδεση με τον υποδοχέα. [5]

Έτσι παρόλο που ενώσεις σαν την μορφίνη και την κοκαΐνη, που χρησιμοποιούνται εδώ και αιώνες, αλλά και σαν τα διτερπένια, που ανακαλύφθηκαν πιο πρόσφατα, έχουν ευνοηθεί εξελικτικά, όσον αφορά το κόστος που καταβάλλεται από την φύση για να συνθέσει αυτούς τους δευτερογενείς μεταβολίτες χρησιμοποιώντας ένζυμα, φαίνεται να είναι χαμηλότερο σε σύγκριση με αυτό που θα πρέπει να καταβάλλουν οι οργανικοί χημικοί για να προετοιμάσουν αυτές τις ενώσεις κατάλληλα για περαιτέρω έρευνα στην ανάπτυξη φάρμακων.

Επομένως, ***απαιτείται να προσδιοριστεί το προνομιακό στοιχείο σε τέτοιες δομές και να αναπαραχθεί χρησιμοποιώντας οικονομικά βιώσιμα συνθετικά μονοπάτια***.

Χάρη στην δυσκολία, λοιπόν, να απομονωθεί από την βρυοστατίνη το φαρμακοφόρο κέντρο αλλά και σε ακόμη αρκετά μόρια, επιστήμονες επινόησαν τον όρο ***βιοέμπνευση***. Ο όρος αναφέρεται στο γεγονός της κατανόησης των διεργασιών, μέσω των οποίων μη-οργανικά μόρια και οργανικά μακρομόρια, αυτό-συναθροίζονται σε οργανωμένες δομές και περίπλοκους σχηματισμούς, που αργότερα ,μπορούν να εμπνεύσουν το σχεδιασμό νέων διαδρομών για την παρασκευή υλικών. Έτσι ενώ αρχικά τα φυσικά προϊόντα θεωρούνταν μόρια-στόχοι δηλαδή ερευνούνταν με σκοπό να χρησιμοποιηθούν τα ίδια σε θεραπείες, άρχισαν να μελετούνται τρόποι με τους οποίους συνθετικά μόρια μπορούν να παραχθούν βασισμένα πάνω στα πρότυπα φυσικά προϊόντα, δηλαδή πως τα φυσικά προϊόντα μπορούν να αποτελέσουν έμπνευση για την συνθετική και τη φαρμακευτική χημεία.

Τέλος, βασισμένη πάνω σε αυτή την λογική, αναφέρεται και μια διαφορετική τάξη ενώσεων, αυτών των *μιμητικών φυσικών προϊόντων* (natural product mimic – NM).[1]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Φυσικά προϊόντα από φυτικές πηγές και το θαλάσσιο περιβάλλον

Τα φυτά παράγουν μια τεράστια ποικιλία οργανικών ενώσεων, η μεγάλη πλειοψηφία των οποίων δεν συμμετέχει άμεσα στην ανάπτυξη τους. Οι ουσίες αυτές αναφέρονται παραδοσιακά ως *δευτερογενείς μεταβολίτες*. Οι λειτουργίες τους , πολλές από τις οποίες παραμένουν άγνωστες, διερευνώνται με αυξανόμενη συχνότητα. Σε αντίθεση, οι *πρωτογενείς μεταβολίτες*, , όπως οι φυτοστερόλες, τα ακυλο-λιπίδια, τα νουκλεοτίδια, τα αμινοξέα και τα οργανικά οξέα βρίσκονται στα πάσης φύσεως φυτά και εκτελούν μεταβολικούς ρόλους που είναι απαραίτητοι και συνήθως προφανείς.

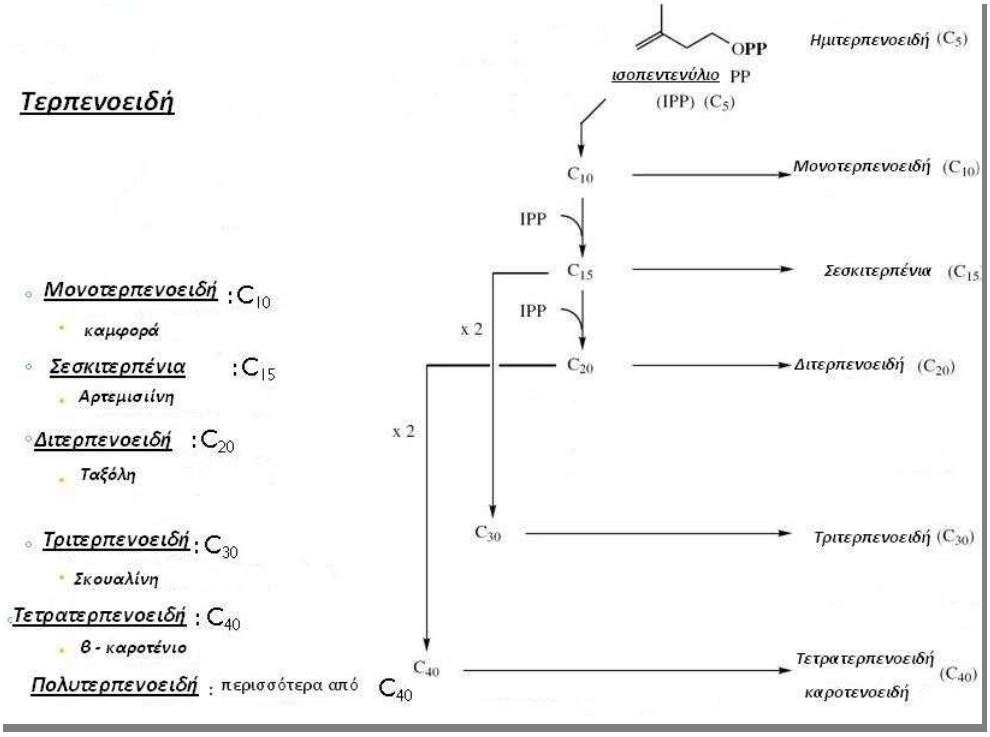
Παρόλο που παρατηρήθηκε η πολυπλοκότητα των χημικών δομών και των βιοσυνθετικών οδών, τα φυσικά προϊόντα αρχικά θεωρήθηκαν ως βιολογικά ασήμαντα. Ωστόσο οι οργανικοί χημικοί, έδειξαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για αυτές τις καινοφανείς χημικές ενώσεις και διερεύνησαν τις χημικές τους ιδιότητες από την δεκαετία του 1850. Μελέτες πάνω σε αυτά, τόνωσαν την ανάπτυξη μεθόδων διαχωρισμού, των φασματοσκοπικών μεθόδων ανάλυσης για την διευκρίνιση της δομής και των συνθετικών μεθοδολογιών που πλέον αποτελούν την βάση της σύγχρονης οργανικής χημείας.

Επιπροσθέτως, πολλές από αυτές τις ενώσεις έχει αποδειχθεί ότι παρέχουν στα φυτά προστασία από μικροβιακές μολύνσεις, αφού είναι ελκυστικές για τους επικονιαστές και τα ζώα που διασκορπίζουν τους σπόρους σε γεωργικές δραστηριότητες. Αυτές οι οικολογικές λειτουργίες επηρεάζουν σε βάθος την επιβίωση των φυτών και θεωρείται εύλογο να υιοθετείται ο λιγότερο υποτιμητικός όρος, «***φυτικά φυσικά προϊόντα***» για την περιγραφή των *φυτικών δευτερογενών μεταβολιτών* που δρουν κατά κύριο λόγο σε άλλα είδη.

Με βάση τη βιοσυνθετική τους προέλευση, τα *φυτικά φυσικά προϊόντα* μπορούν να κατηγοριοποιηθούν στις εξής μεγάλες ομάδες : τα ***τερπενοειδή*** , τα ***αλκαλοειδή***, τα ***φαινυλοπροπανοειδή*** και τις ***φαινολικές ενώσεις***.

Όλα τα τερπενοειδή, συμπεριλαμβανομένων και των πρωτογενών μεταβολιτών και των περισσοτέρων από 25 χιλιάδων δευτερογενών ενώσεων βιοσυντίθενται από μία πρόδρομη ένωση που αποτελείται από πέντε άνθρακες (C_5), το ***δισφωσφορικό*** (ή πυροφωσφορικό) ***ισοπεντενύλιο- IPP***. Τα 12 χιλιάδες περίπου γνωστά αλκαλοειδή, τα οποία περιέχουν ένα ή περισσότερα άτομα αζώτου παράγονται βιοσυνθετικά από τα αμινοξέα. Οι 8 χιλιάδες περίπου φαινολικές ενώσεις, σχηματίζονται είτε μέσω της βιοσυνθετικής οδού του σικιμικού οξέος ή αντίστοιχα του μηλονικού οξέος.

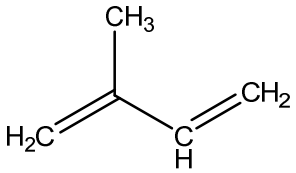
Τερπενοειδή



Εικόνα 6. *Τερπενοειδή*

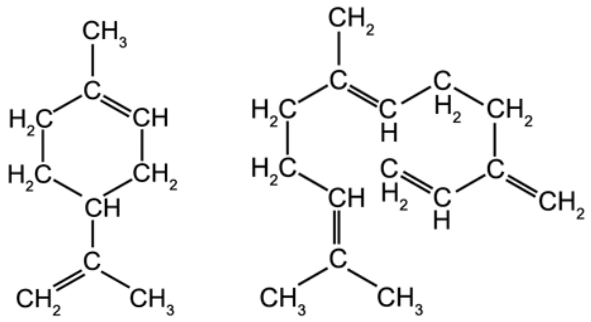
Τα τερπενοειδή αποτελούν την πιο δομικά ποικίλη κατηγορία των φυτικών φυσικών προϊόντων. Ο όρος ***τερπενοειδή*** ή *τερπένια* απορρέει από τον διαχωρισμό των πρώτων, ιστορικά, μελών της κατηγορίας που απομονώθηκαν από εμπορικό νέφτι (terpentin στα γερμανικά). Όλα τα τερπενοειδή, προέρχονται από επαναληπτική σύντηξη μονάδων με πέντε άνθρακες, που βασίζονται στον σκελετό του ισοπεντανίου. Αυτά τα μονομερή γενικά αναφέρονται ως μονάδες ισοπρενίου καθώς η θερμική αποσύνθεση πολλών τερπενοειδών αποδίδει αέριο ισοπρένιο ως προϊόν. Σε κατάλληλες χημικές συνθήκες το ισοπρένιο πολυμερίζεται σε μακρομόρια που περιέχουν αριθμό ατόμων άνθρακα πολλαπλάσιο του πέντε, δημιουργώντας έτσι πολυάριθμους σκελετούς τερπενοειδών.

Τα μικρότερα τερπενοειδή περιέχουν μια μονάδα ισοπρενίου: ως ομάδα ονομάζονται ***ημιτερπενοειδή***. Το πιο γνωστό είναι το ίδιο το **ισοπρένιο**, ένα πτητικό προϊόν που εκλύεται από φωτοσυνθετικά ενεργούς ιστούς.



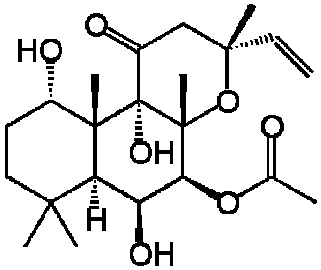
Εικόνα 7. ***Ισοπρένιο***

Τα τερπενοειδή με δέκα άτομα άνθρακα (C_{10} terpenoids) αν και αποτελούνται από δύο ομάδες ισοπρενίου, ονομάζονται ***μονοτερπενοειδή.*** Τα μονοτερπενοειδή είναι ιδιαίτερα γνωστά ως συστατικά των πτητικών αποσταγμάτων των λουλουδιών και των κυριότερων ελαίων των βοτάνων και των μπαχαρικών στα οποία αποτελούν έως και το 5% επί ξηρής βάσης : απομακρύνονται με απόσταξη και βρίσκουν σημαντικές βιομηχανικές χρήσεις σε γεύσεις και αρώματα. Τα τερπενοειδή που προέρχονται από τρεις μονάδες ισοπρενίου και αποτελούνται από δεκαπέντε άτομα άνθρακα (C_{15}) είναι γνωστά και ως ***σεσκιτερπένια*** (εκ του ενός και ήμισυ τερπένιου) . Όπως και τα μονοτερπενοειδή, πολλά σεσκιτερπένια βρίσκονται σε κύρια αιθέρια έλαια. Ακόμη ενεργούν ως φυτοαλεξίνες (αντιμικροβιακές ουσίες που παράγονται από φυτά, ως απάντηση σε μικροβιακές προκλήσεις).



Εικόνα 8. ***λεμονένιο****, ένα χαρακτηριστικό μονοτερπενοειδές που βρίσκεται στα αιθέρια έλαια των λεμονιών και* ***β-φαρνεσένιο****, ένα χαρακτηριστικό σεσκιτερπένιο*

Τα ***διτερπενοειδή,*** που περιέχουν είκοσι άνθρακες (4 μονάδες C_5) περιλαμβάνουν την φυτόλη (υδρόφοβη πλευρική αλυσίδα της χλωροφύλλης), τα ρητινικά οξέα των ψυχανθών και των κωνοφόρων ειδών, τις φυτοαλεξίνες και μια σειρά ,από φαρμακολογικής σκοπιάς, σημαντικών μεταβολιτών. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η **ταξόλη** (Taxol), ένας αντικαρκινικός παράγοντας που βρίσκεται σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (0,001% επί ξηρής βάσης) στον φλοιό του Ίταμου του Ειρηνικού (*Taxus brevifolia*), και την **φορσκολίνη**, μία ένωση που απομονώνεται από το τροπικό φυτό *Coleus forskohlii* που χρησιμοποιείται για την θεραπεία του γλαυκώματος.

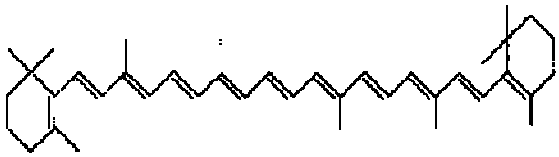


Εικόνα 9. ***Φορσκολίνη****, ένα χαρακτηριστικό διτερπενοειδές*

Τα ***τριτερπενοειδή*** τα οποία περιέχουν 30 άτομα άνθρακα και αποτελούνται από 6 μονάδες ισοπρενίου περιλαμβάνουν τα συστατικά μεμβράνης της φυτοστερόλης, ορισμένες φυτοαλεξίνες, ποικίλες τοξίνες και συστατικά της επιφάνειας των κεριών, όπως το ολεανολικό οξύ των σταφυλιών.

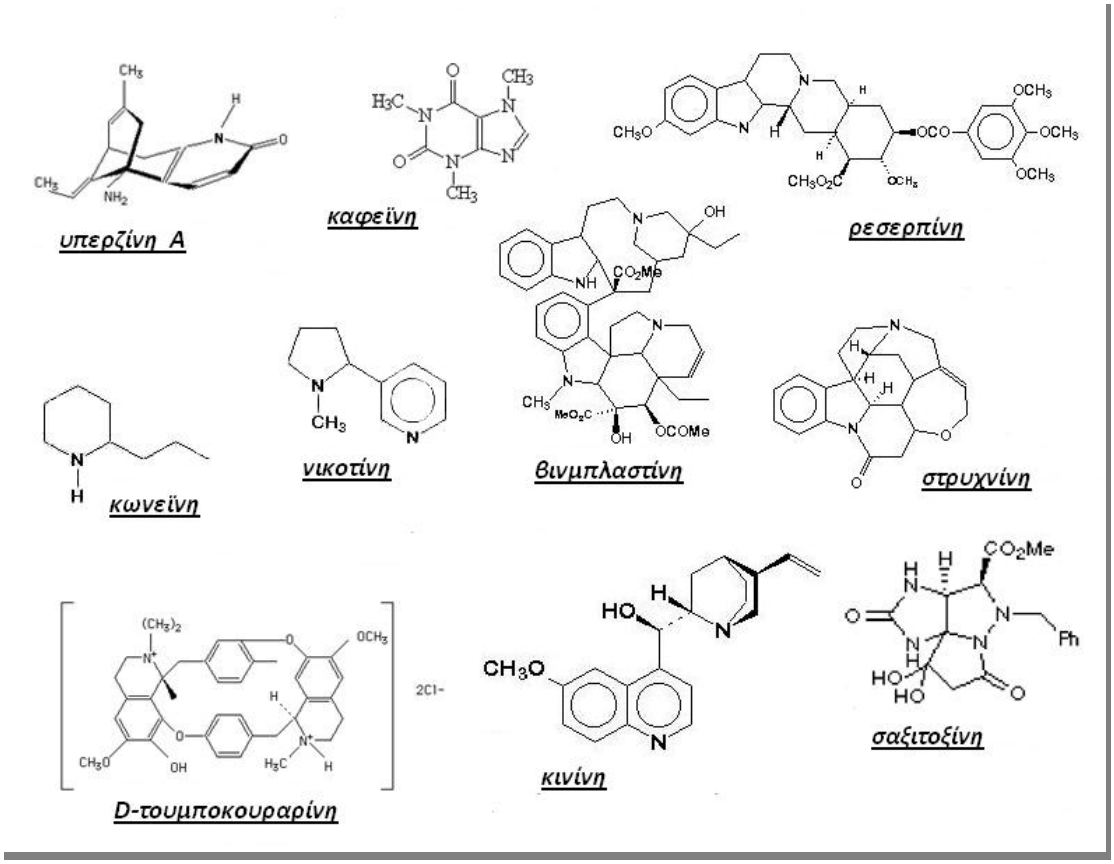
Εικόνα 10. *Ανθρακική αλυσίδα της* ***σκουαλίνης****, ένα τριτερπενοειδές που απομονώνεται κυρίως από τα έλαια του συκωτιού καρχαρία*

Συνεχίζοντας στην κατηγοριοποίηση των τερπενοειδών, τα πιο διαδεδομένα ***τετρατερπενοειδή*** (C_{40} , 8 μονάδες ισοπρενίου) είναι οι καροτενοειδείς χρωστικές ουσίες που ασκούν βασικές λειτουργίες στην φωτοσύνθεση. Τέλος, τα ***πολυτερπενοειδή,*** είναι η ομάδα τερπενίων που έχουν παραπάνω από 8 μονάδες ισοπρενίου και συγκαταλέγονται στις μακράς αλυσίδας πολυπρετόλες, που συμμετέχουν στις αντιδράσεις μεταφοράς των σακχάρων.



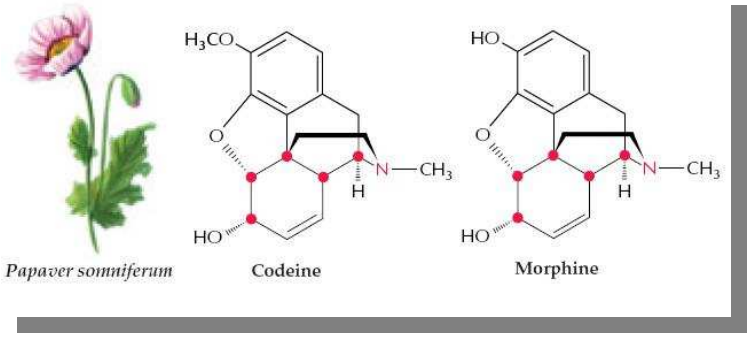
Εικόνα 11. *Ανθρακική αλυσίδα του **β-καροτένιου**, τετρατερπενοειδούς που βρίσκεται σε αφθονία σε φρούτα και καρπούς*

Αλκαλοειδή



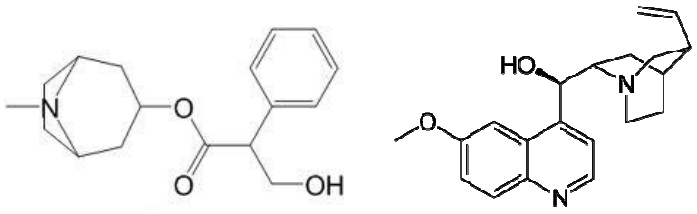
Εικόνα 12. *Αλκαλοειδή*

Στο πέρασμα του χρόνου το όπιο αποδείχτηκε ο «βασιλιάς» όλων των φαρμακευτικών σκευασμάτων, το οποίο καταναλώνονταν υπό την μορφή Theriak, ενός κατασκευάσματος που αποτελείτο από όπιο, αποξηραμένο κρέας φιδιού και κρασί. Η ανάλυση των συστατικών του όπιου οδήγησε στην ταυτοποίηση της μορφίνης, ουσία που πήρε το όνομά της από τον Μορφέα, τον θεό των ονείρων στην Ελληνική μυθολογία. Η απομόνωση της μορφίνης το 1806 από τον Γερμανό φαρμακοποιό Friedrich Sertimer οδήγησε στην μελέτη των *αλκαλοειδών*. Ο όρος αλκαλοειδές επινοήθηκε το 1819 στην Γερμανία από άλλο φαρμακοποιό, τον Carl Meissner και βρίσκει την καταγωγή του στο αραβικό όνομα al-qali, το φυτό από το οποίο απομονώθηκε για πρώτη φορά η σόδα. Τα ***αλκαλοειδή*** αρχικά καθορίστηκαν ως φαρμακολογικά δραστικές ενώσεις , φυτικής προέλευσης, που περιέχουν άζωτο. Μετά από 190 χρόνια στην έρευνα των αλκαλοειδών, ο ορισμός αυτός δεν είναι πλέον αρκετά πλήρης για να καλύψει το πεδίο αυτό αλλά σε πολλές περιπτώσεις εξακολουθεί να είναι κατάλληλος. Τα αλκαλοειδή δεν απαντώνται μόνο στα φυτά : έχουν επίσης απομονωθεί από πολυάριθμες ζωικές πηγές. Πολλά ανακαλυφθέντα αλκαλοειδή δεν είναι φαρμακολογικά δραστικά σε θηλαστικά και μερικά είναι ουδέτερα παρά την παρουσία του αζώτου στο μόριο. Επιπλέον, πολλά χρησιμοποιούνται ως συνταγογραφούμενα φάρμακα. Ένα από τα πιο γνωστά είναι η **κωδεΐνη**, το αντιβηχικό και αναλγητικό αλκαλοειδές που προέρχεται από το όπιο της παπαρούνας *Papaver Somniferum*.



Εικόνα 13. *Δομές των αλκαλοειδών **κωδεΐνη** και **μορφίνη** που προέρχονται από το όπιο της παπαρούνας Papaver Somniferum* [6]

Τα φυτικά αλκαλοειδή έχουν επίσης χρησιμεύσει ως μοντέλα για τα σύγχρονα συνθετικά φάρμακα όπως η ατροπίνη για την **τροπικαμίδη**, φάρμακο που χρησιμοποιείται για την διαστολή της κόρης του οφθαλμού κατά την διάρκεια οφθαλμολογικών εξετάσεων και το αντιελονοσιακό αλκαλοειδές *κινίνη*, παράγωγο της **κινολίνης**.



Εικόνα 14. *Μοριακές δομές των αλκαλοειδών,* ***ατροπίνη*** *και* ***κινίνη***

Περισσότερα από 12 χιλιάδες αλκαλοειδή έχουν απομονωθεί μετά την ανακάλυψη της μορφίνης. Σχεδόν το 20% του πληθυσμού των ανθοφόρων ειδών παράγουν αλκαλοειδή και καθένα από αυτά τα είδη συσσωρεύει τα αλκαλοειδή με ένα μοναδικό μοτίβο.

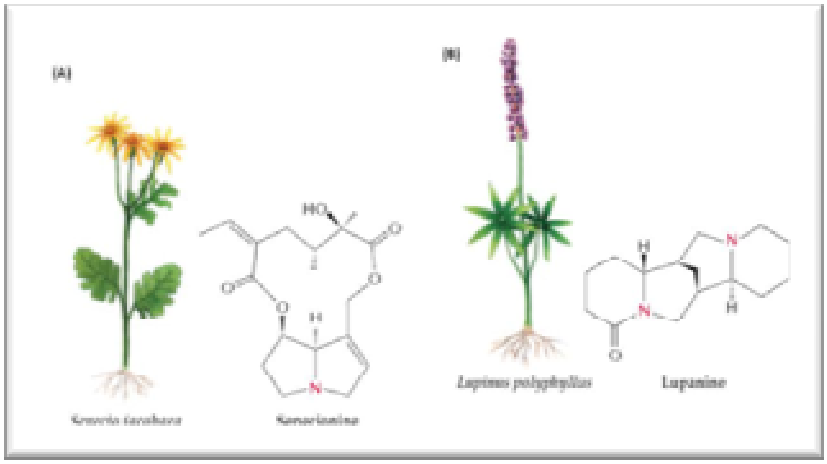
Ο ρόλος της χημικής άμυνας για τα αλκαλοειδή υποστηρίζεται από το εύρος των επιπτώσεων της φυσιολογίας στα ζώα και από την αντιβιοτική δράση που εμφανίζουν πολλά αλκαλοειδή. Διάφορα αλκαλοειδή είναι τοξικά σε έντομα ή λειτουργούν ως αναχαιτιστικοί παράγοντες της διατροφής. Για παράδειγμα, η **νικοτίνη** που βρίσκεται στο καπνό ήταν ένα από τα πρώτα εντομοκτόνα που χρησιμοποιήθηκε από τον άνθρωπο και παραμένει ένα από τα πιο αποτελεσματικά. Μια άλλη αποτελεσματική τοξίνη ενάντια στα έντομα είναι η **καφεΐνη** που βρίσκεται στο καφέ, στο τσάι και στους σπόρους και στα φύλλα του κακάο. Σε συγκέντρωση πολύ μικρότερη από αυτή στα φύλλα τσαγιού ή στους κόκκους καφέ, η καφεΐνη σκοτώνει σχεδόν όλες τις προνύμφες της κάμπιας Manduca sexta (γνωστή ως tobacco hornworm) εντός 24 ωρών. Επίσης, το στεροειδές - αλκαλοειδές **α-σολανίνη**, είναι αναστολέας του ενζύμου χολιστερενάση, που βρίσκεται στους κονδύλους πατάτας και είναι το ιχνηλατικό τοξικό συστατικό που θεωρείται υπεύθυνο για την τερατογένεση τω βλαστών της πατάτας.

Εικόνα 15. *Δομή του αλκαλοειδούς **καφεΐνη** που προέρχεται από το φυτό coffea arabica* [6]

Δύο ομάδες αλκαλοειδών που έχουν μελετηθεί επαρκώς σε σχέση με την οικοχημική λειτουργία, είναι τα ***πυρρολιζιδινικά*** και τα ***κινολιζιδινικά*** αλκαλοειδή.

Τα πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή, που συχνά απαντώνται σε μέλη του γένους *Senecioneae* και *Boraginceae*, καθιστούν τα περισσότερα από αυτά τα φυτά τοξικά για τα θηλαστικά. Σε είδη όπως το *Senecio vulgaris* και *S.Vernalis*, 60% έως και 80% των πυρρολιζιδινικών αλκαλοειδών συσσωρεύονται στις ταξιανθίες (άνθη). Από την άλλη πλευρά μερικά είδη εντόμων έχουν προσαρμοστεί στα πυρρολιζιδινικά αλκαλοειδή που συσσωρεύονται στα φυτά και έχουν αναπτύξει μηχανισμούς για την χρήση των αλκαλοειδών προς δικό τους όφελος. Μερικά έντομα μπορούν να τρέφονται με τα συγκεκριμένα αλκαλοειδή και να τα εξαλείφουν αποτελεσματικά και αποδοτικά μέσω ενζυμικής τροποποίησης . Άλλα έντομα, όχι μόνο τρέφονται με αυτά τα αλκαλοειδή για την υπεράσπισή τους αλλά τα μετατρέπουν σε φερομόνες ώστε να προσελκύουν μελλοντικούς συντρόφους.

Τα κινολιζιδινικά αλκαλοειδή απαντούν κατά κύριο λόγο στο γένος *Lupinus* και συχνά αναφέρονται ως λούπινα αλκαλοειδή: είναι τοξικά σε ζώα βοσκής, ιδιαίτερα στα πρόβατα. Λόγω της πικρής τους γεύσης τα λούπινο-αλκαλοειδή μπορούν να λειτουργήσουν ως ανασταλτικά διατροφής.



Εικόνα 16. (Α) *δομή του πυρρολιζιδινικού αλκαλοειδούς* **σενεσιονίνη** *που προέρχεται από το φυτό Sereccio Jacobaea* και (Β) *δομή του κινολιζιδινικού αλκαλοειδούς* **λουπανίνη** *που προέρχεται από το φυτό Lupinus polyphyllus* [6]

Φαινυλοπροπανοειδή - φαινολικές ενώσεις

Τα φυτά κατάγονται από το υδάτινο περιβάλλον : η επιτυχημένη εξελικτική προσαρμογή τους στην ξηρά επιτεύχθηκε σε ένα μεγάλο βαθμό από την μαζική δημιουργία των φυτικών ***φαινολικών ενώσεων*** . Παρόλο που το μεγαλύτερο μέρος των εν λόγω ουσιών θεωρείται ότι έχει διαθρωτικούς ρόλους στο κυτταρικό τοίχωμα, μια απέραντη συστοιχία μη δομικών συστατικών διαμορφώθηκε αναλαμβάνοντας ρόλους όπως την υπεράσπιση των φυτών, τον προσδιορισμό ορισμένων διακριτικών χαρακτηριστικών διαφορετικών ξύλων και φλοιών (πχ ανθεκτικότητα), την καθιέρωση του χρώματος στο άνθος και την ουσιαστική συμβολή σε ορισμένες γεύσεις και οσμές. Στο καταμετρημένο 40% του οργανικού άνθρακα που κυκλοφορεί στην βιόσφαιρα, αυτές οι φαινολικές ενώσεις προέρχονται κατά κύριο λόγο από τα ***φαινυλοπροπανοειδή*** και τις σχετικές βιοχημικές οδούς όπως αυτές που οδηγούν στις υδρολυόμενες τανίνες.

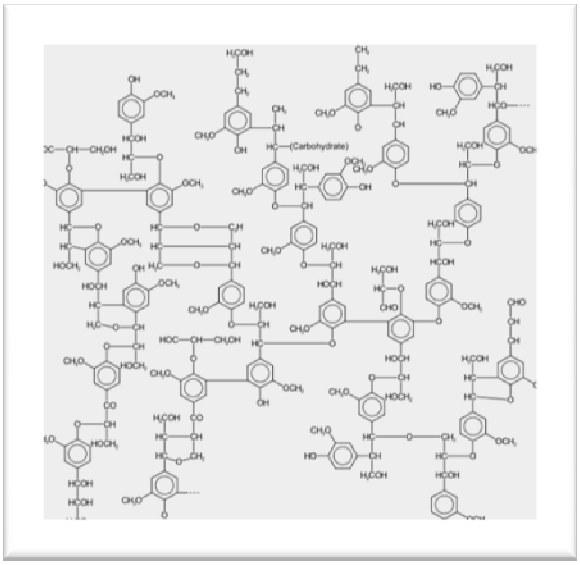
Ως φυτικά φαινολικά παράγωγα γενικά χαρακτηρίζονται οι αρωματικοί μεταβολίτες που κατέχουν, ή παλαιότερα κατείχαν μία ή περισσότερες όξινες ομάδες υδροξυλίου συνδεδεμένες στον αρωματικό φαινολικό δακτύλιο. Αυτές οι ενώσεις απασχόλησαν τους φυτοβιολόγους για χρόνια, παρεμβαίνοντας με

πειραματικές μεθόδους. Για παράδειγμα, όταν εκτίθενται στον αέρα, τα φυτικά φαινολικά παράγωγα εύκολα οξειδώνονται και μαυρίζουν δημιουργώντας προϊόντα που σχηματίζουν σύμπλοκα με πρωτεΐνες και αναστέλλουν την ενζυμική δραστηριότητα. Τα καλλιεργημένα φυτά μπορούν επίσης να απελευθερώσουν φαινολικά που εμποδίζουν την ανάπτυξη των κάλλων και την αναγέννηση των βλαστών. Την ίδια στιγμή, οι φαινολικές ενώσεις αναγνωρίζονται ταχύτατα για την βαθιά συμβολή τους στην ανάπτυξη, αναπαραγωγή και άμυνα των φυτών.[6]

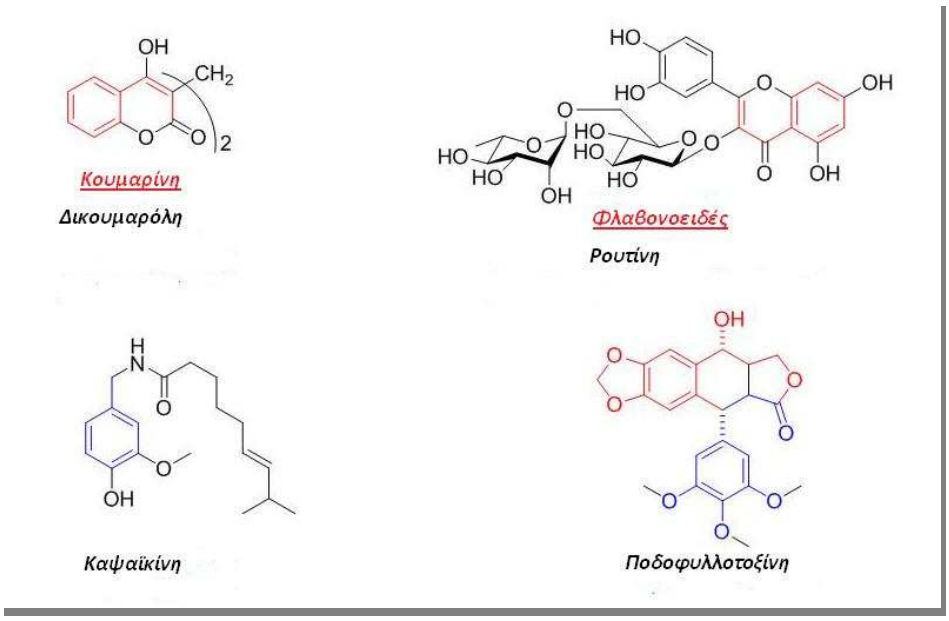
Οι περισσότερες φαινολικές ενώσεις ανήκουν στην κατηγορία των *φλαβονοειδών*. Η **λιγνίνη**, το κύριο συστατικό του ξύλου, είναι το πιο γνωστό μέλος αυτής της ομάδας. Ο ακόλουθος πίνακας παρουσιάζει τις πιο σημαντικές ομάδες των φυτικών φαινολικών ενώσεων.

Πίνακας 3. Κατηγορίες φαινολικών ενώσεων

Αριθμός ατόμων άνθρακα	*Βασικός ανθρακικός σκελετός*	*ομάδα φαινολικών ενώσεων*
6	C_6	βενζοκινόνες
7	C_6 - C_1	φαινολικά οξέα
8	C_6 - C_2	ακετοφαινόνη, φαινυλοξικό οξύ
9	C_6 - C_3	υδροξυκινναμικό οξύ, πολυπροπένιο,κουμαρίνες,ισοκουμαρίνες
10	C_6 - C_4	ναφθοκινόνη
13	C_6 - C_1 - C_6	ξανθόνες
14	C_6 - C_2 - C_6	στιλβένιο, ανθρακινόνη
15	C_6 - C_3 - C_6	φλαβονοειδή,ισοβλαφονοειδή
18	$(C_6 - C_3)_2$	λιγνάνες,νεολιγνάνες
30	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$	διφλαβονοειδή



Εικόνα 17. *μοριακή δομή της **λιγνίνης**, μιας χημικής ένωσης που προέρχεται από το δέντρινο ξύλο και αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι των δευτεροβάθμιων κυτταρικών τοιχωμάτων των φυτών και μερικών άλγεων* [7]

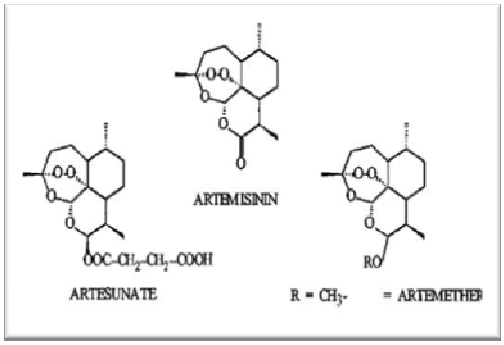


Εικόνα 18. *Φαινυλοπροπανοειδή*

Μερικά ιδιαίτερης σημασίας φυσικά προϊόντα τα οποία έχουν εξαχθεί από χερσαία φυτά και αποτελούν ήδη φάρμακα ή υπόκεινται σε κλινικές δοκιμές, είναι τα παρακάτω:

Αρτεμισινίνη

Το *Artemisia annua* (compositae) είναι ένα αρωματικό ετήσιο βότανο που εμφανίζεται κυρίως ως μέρος της βλάστησης της στέπας στην Κίνα. Αυτό το βότανο είναι η πηγή της *αρτεμισινίνης* : αυτός ο δευτεροταγής μεταβολίτης είναι ένα σεσκιτερπένιο λακτόνης που δρα αποτελεσματικά ενάντια στα πολυανθεκτικά στελέχη του *Plasmodium*, που είναι το παράσιτο της ελονοσίας. Αυτές οι αντι-ελονοσιακές ιδιότητες της ένωσης, συνδέονται με την λειτουργία του υπεροξειδίου στο παρών σεσκιτερπένιο. Ιστορικά, το 1972 απομονώθηκε το κύριο δραστικό συστατικό- η *αρτεμισινίνη*- και το 1979 προσδιορίστηκε η δομή του με κρυσταλλογραφική ανάλυση ακτινών Χ.[8]



Εικόνα 19. *Η* **αρτεμισίνη** *και μερικά ημισυνθετικά παράγωγα της*[8]

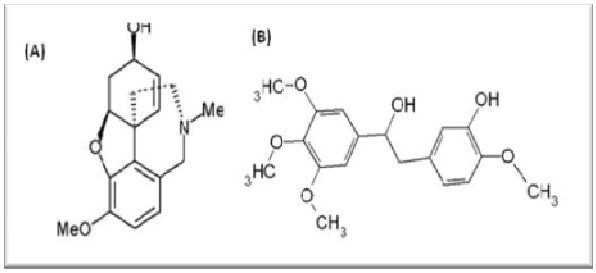
Γκαλανταμίνη

Η **γκαλανταμίνη** είναι ένα αλκαλοειδές που απομονώθηκε από το καυκάσιο *Galanthus woronowii*, ένα βολβώδες ποώδες φυτό και από τους βολβούς διαφορετικών ειδών των γενών *Amaryllidaceae*. Η γκαλανταμίνη που διατίθεται στο εμπόριο ως Razadyne, ή υδροβρωμική γκαλανταμίνη, είναι ένας από τους εγκεκριμένους αναστολείς του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση (AchE) στην Ευρώπη

και στις ΗΠΑ χρησιμοποιείται για την συμπτωματική θεραπεία της νόσου του Alzheimer (AD). [9]

<u>Κομπρεταστατίνες</u>

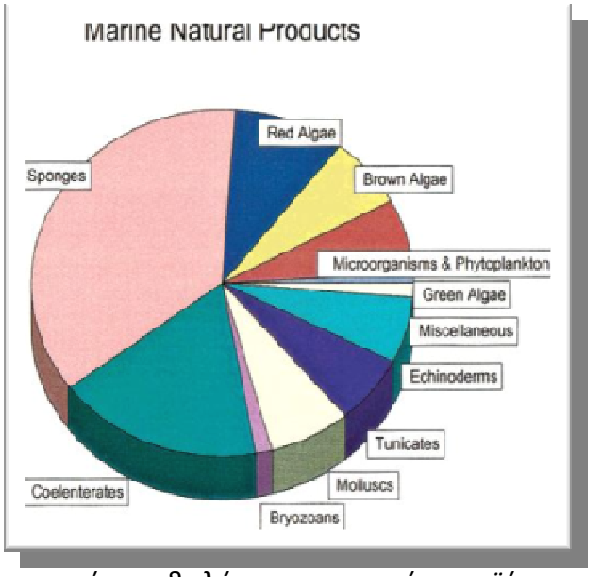
Το γένος *Combretum*, το οποίο απαντάται στην Νότιο Αφρική ανήκει στην οικογένεια *Combretaceae* : ένα από τα μέλη του γένους αυτού, η ιτιά *Cobretum caffrum* βρέθηκε να παρέχει εκχυλίσματα με σημαντική δραστηριότητα κατά της λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας καθώς και τις βιοενεργές ενώσεις **κομπρεταστατίνη *A-1*** και ***B-1*** που έχουν απομονωθεί από αυτό το στέλεχος. Ακόμη, το ανάλογο **κομπρεταστατίνη *A-4*** έχει αναγνωριστεί ως ένας πολλά υποσχόμενος αντιαγγειακός παράγοντας : χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι τον Νοέμβριο του 1988 ξεκίνησαν κλινικές δοκιμές με την μορφή του «προ-φαρμάκου» (pro-drug). Οι κομπρεταστατίνες ανήκουν στην κατηγορία των φαινολικών φυσικών προϊόντων.[10]



Εικόνα 20.*Μοριακή δομή της (A)* **γκαλανταμίνης** *και (B)* **κομπρεταστατίνης A-1**

Το θαλάσσιο περιβάλλον χαρακτηρίζεται από μοναδικές ομάδες οργανισμών που αποτελούν μια μεγάλη ποικιλία από συναρπαστικές δομές. Αυτή η τεράστια βιοποικιλότητα των θαλάσσιων οικοτόπων, αντικατοπτρίζεται από την μοριακή ποικιλομορφία των *δευτερογενών μεταβολιτών* που βρίσκονται σε θαλάσσια ζώα, φυτά και μικρόβια. Το γεγονός ότι πολλά θαλάσσια ασπόνδυλα περιέχουν ενδο- και επιβιωτικούς μικροοργανισμούς, ορισμένα εκ των οποίων παράγουν φυσικά προϊόντα που δομικά σχετίζονται με βακτηριακούς μεταβολίτες, υποδεικνύει τη μικροβιακή προέλευση αυτών των ενώσεων. Ωστόσο άλλα θαλάσσια φυσικά προϊόντα βρίσκονται σε ιστούς ασπόνδυλων οργανισμών. Η πολυπλοκότητα των ενώσεων στους θαλάσσιους μικροοργανισμούς, ιδιαίτερα στους σπόγγους, τα

βρυόζωα (bryozoans) και τα χιτωνοφόρα θαλάσσια ζώα καθιστά εξαιρετικά δύσκολο τον προσδιορισμό της πηγής βιοσύνθεσης πολλών θαλάσσιων φυσικών προϊόντων : ενώ πολλοί συμβιωτικοί θαλάσσιοι μικροοργανισμοί, δεν μπορούν να απομονωθούν και να παραχθούν σε καλλιέργειες, πολυάριθμοι επι- και ενδοβιωτικοί μύκητες μπορούν να παράγουν δευτερογενείς μεταβολίτες σε εργαστηριακές καλλιέργειες.[11]



Εικόνα 21. *Κατανομή των θαλάσσιων φυσικών προϊόντων με βάση την πηγή*[12]

Επιγραμματικά αναφέρονται οι κύριες πηγές εξαγώγιμων φυσικών προϊόντων του θαλάσσιου κόσμου και μια μερική ομαδοποίηση τους.

<u>Βιοενεργοί μεταβολίτες από θαλάσσια φύκια, μύκητες και βακτήρια</u>

Περίπου 30.000 είδη φυκιών βρίσκονται σε όλο τον κόσμο και απαντούν σε μέρη όπου το φώς και η υγρασία βρίσκονται σε αφθονία στη θάλασσα. Αυτά παρέχουν οξυγόνο στην βιόσφαιρα, αποτελούν μια πηγή τροφής για τα ψάρια, τα βοοειδή και τον άνθρωπο. Τα φύκια χρησιμοποιούνται ως φάρμακα και λιπάσματα. Μερικά είδη εκκρίνουν τοξικές ουσίες, που μολύνουν το θαλάσσιο νερό.

Δημοσιευμένες αναφορές υπάρχουν για την έρευνα πάνω σε μπλε-πράσινα άλγη και σε δινομαστιγωτά : αναφορές γίνονται για τα αμινοξέα από θαλάσσια φύκη, τα παράγωγα γοναδιδίνης, των φαινολικών ουσιών, των καροτενοειδών, των διτερπενοειδών, της βιοσύνθεσης μεταβολικών οδών, των βιοενεργών πολυμερών και των αλογονωμένων ενώσεων. Πιο συγκεκριμένα, χημικά οι βιοενεργοί μεταβολίτες της θαλάσσιας χλωρίδας περιλαμβάνουν τις βρωμιωμένες φαινόλες, τα ετεροκυκλικά οξυγόνου και του αζώτου , τα τερπενοειδή, τους πολυσακχαρίτες, τα πεπτίδια και τις πρωτεΐνες.

<u>Θαλάσσια βακτήρια και μύκητες</u>

Τα βακτήρια και οι μύκητες είναι οι πρωταρχικοί παραγωγοί των ανταγωνιστικών ουσιών στο χερσαίο περιβάλλον : ένας αντίστοιχος ρόλος είναι αναμενόμενος από τους μικροοργανισμούς αυτούς στους ωκεανούς. Πράγματι, έχουν αναφερθεί οι αντιβιοτικές, αντιϊικές και αντιμυκητιασικές δράσεις τους.

<u>Βιοενεργοί μεταβολίτες από θαλάσσια ασπόνδυλα</u>

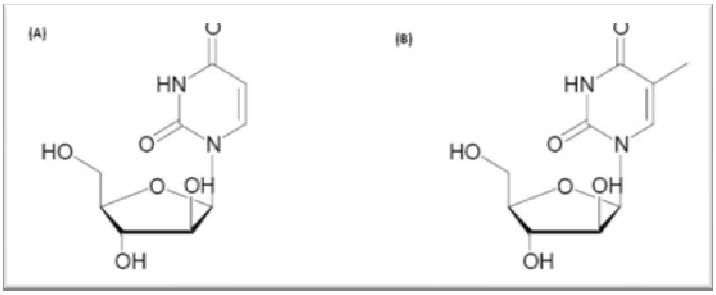
Αρκετοί μεταβολίτες ασυνήθιστης δομής που παρουσιάζουν βιολογική δραστικότητα, έχουν απομονωθεί από θαλάσσια ζώα. Οι μεταβολίτες που παρουσιάζουν ενδιαφέρον, έχουν κατά κύριο λόγο απομονωθεί από σπόγγους, μέδουσες, ανεμώνες, κοράλλια, βρυόζωα, μαλάκια, εχινόδερμα, χιτωνοφόρα και μαλακόστρακα.

Οι βιοδραστικοί μεταβολίτες που έχουν απομονωθεί από θαλάσσια ζώα θα μπορούσαν να διαχωριστούν σε στεροειδή, τερπενοειδή, ισοπρενοειδή, μη-ισοπρενοειδή, κινόνες, βρωμιούχα παράγωγα και ετεροκυκλικά του αζώτου.[13]

<u>Παράγωγα σε κλινικές δοκιμές- υποψήφια φάρμακα</u>

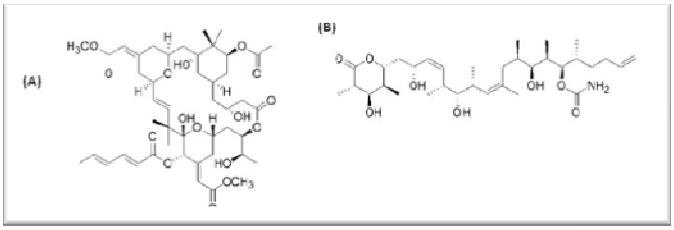
Σε αντίθεση με την μεγάλη ιστορική ιατρική χρήση των χερσαίων φυτών, οι θαλάσσιοι μικροοργανισμοί έχουν μια συντομότερης ιστορίας χρήση στην θεραπεία ή/και την πρόληψη των ανθρωπίνων νόσων.

Μεταξύ των πρώτων βιοδραστικών ενώσεων είναι η **σπογγουριδίνη** και η **σπογγοθυμιδίνη**, που απομονώθηκαν από ένα είδος σπόγγου της Καραϊβικής στις αρχές του 1950. Εγκρίθηκαν ως αντικαρκινικό και αντιϊικό φάρμακο 15 χρόνια αργότερα.



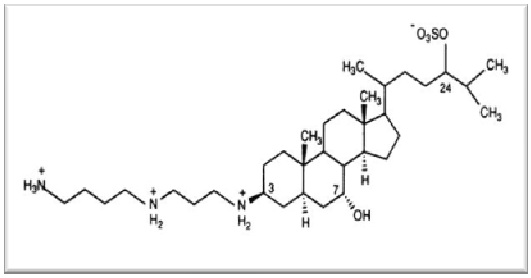
Εικόνα 22. *(A)* ***σπογγουριδίνη*** *και (B)* ***σπογγοθυμιδίνη***[14]

Ένα άλλο ενδιαφέρον φυσικό προϊόν, εξαγόμενο από το θαλάσσιο περιβάλλον η **βρυοστατίνη 1**, έχει απομονωθεί από το βρυόζωο *Bulgula neritina* και δρα δεσμεύοντας τους ίδιους υποδοχείς με τους εστέρες φορβόλης, οι οποίοι έχει διαπιστωθεί ότι είναι υποκινητές καρκινογένεσης σε αντίθεση με το αναφερθέν φυσικό προϊόν. Η δέσμευση της βρυοστατίνης στους υποδοχείς δρα κατασταλτικά σε διαφορικά καρκινικά κύτταρα με αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξης, τις μεταβολές διαφοροποίησης ή/και τον κυτταρικό θάνατο. Επιπροσθέτως η **δισκοδερμολίδη** που έχει απομονωθεί από το θαλάσσιο σπόγγο, *Discoderma dissolute,* αναστέλλει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων in vitro, συμπεριλαμβανομένων και των κυττάρων που αντιστέκονται στην δράση της πακλιταξέλης (taxol/paclitaxel) και της εποθιλάνης.



Εικόνα 23. *(A)* ***βρυοστατίνη Ι*** *και (B)* ***δισκοδερμολίδη***[14]

Τέλος, ένα ακόμη ενδιαφέρον προϊόν είναι η **σκουαλαμίνη** : μια αμινοστερόλη που απομονώθηκε από το ήπαρ του καρχαρία *Squalus ocanthias* και προκαλεί αναστολή της ανάπτυξης των αγγείων, παίζοντας καθοριστικό ρόλο στην εξάπλωση των συμπαγών όγκων. Βρίσκεται ακόμη στο στάδιο κλινικών δοκιμών. [14]



Εικόνα 24. ***Σκουαλαμίνη***

Κεφάλαιο 3

Ανάπτυξη φαρμάκων από φυσικά προϊόντα : προσεγγίσεις της συνθετικής οργανικής χημείας

Τα φυσικά προϊόντα που ανήκουν στην κατηγορία των μικρών μορίων (**s**mall **m**olecules **n**atural **p**roducts or SMNPs), έχουν διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην πειραματική ανάπτυξη της οργανικής χημείας.

Αναλυτικότερα, τα φυσικά προϊόντα διαθέτουν από μόνα τους την δραστικότητα, την επιλεκτικότητα και τα φαρμακοκινητικά χαρακτηριστικά που τα καθιστούν, κλινικά χρήσιμους, φαρμακευτικούς παράγοντες. Πολλές είναι οι περιπτώσεις που οι ίδιες οι ενώσεις, χρησιμεύουν ως καινοτόμοι παράγοντες που παρέχουν στον χημικό επιστήμονα την δομική «πλατφόρμα», την οποία μπορεί να επεξεργαστεί και να απλοποιήσει ώστε να παράγει ένα θεραπευτικά πολύτιμο φαρμακευτικό παρασκεύασμα. Ανάλογες ενώσεις που προσεγγίζονται , μέσω τροποποίησης των φυσικών προϊόντων θεωρούνται ως «*παράγωγα των φυσικών προϊόντων*».

Εναλλακτικά, ένα βιολογικά ενεργό φυσικό προϊόν μπορεί να χρησιμεύσει ως πηγή έμπνευσης στην ανακάλυψη φαρμάκων, με την έννοια ότι μπορεί να παρέχει τύπους δομικών χαρακτηριστικών, που μπορεί να αποδειχθούν πολύτιμοι. Ένα υποψήφιο φάρμακο το οποίο έχει σχεδιασθεί με βάση τις «διδαχές» που έχουν εκτιμηθεί από ένα φυσικό προϊόν, αλλά το οποίο δεν έχει συντεθεί από την μητρική ένωση, χαρακτηρίζεται ως «*εμπνευσμένο εκ του φυσικού προϊόντος».* Αυτή η τελευταία κατάταξη, μπορεί να καλύψει ένα ευρύ φάσμα ενώσεων : από αυτές που ουσιαστικά διατηρούν όλα τα δομικά χαρακτηριστικά του φυσικού προϊόντος μέχρι αυτές, στις οποίες έχουν διατηρηθεί μόνο «δομικές υποδείξεις» του φυσικού προϊόντος.[15]

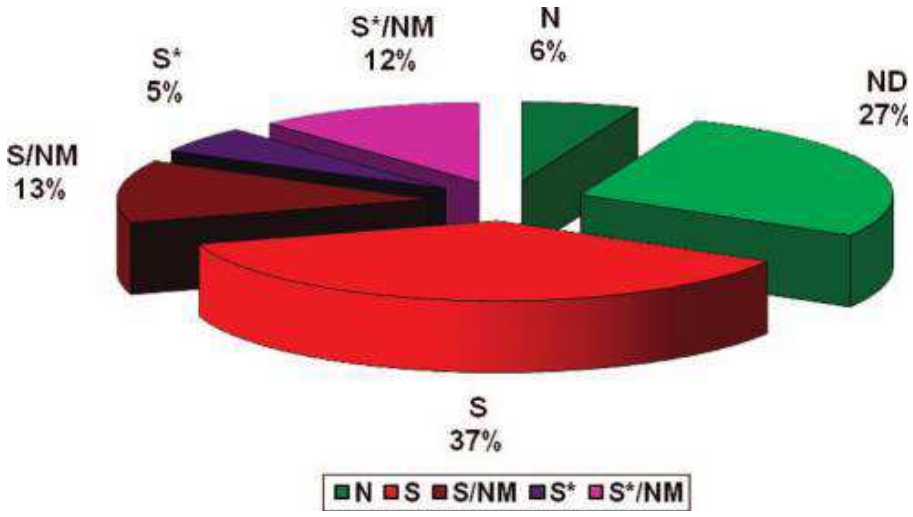
Η φύση αποτελεί πηγή όχι μόνο χημειοθεραπευτικών παραγόντων, αλλά και καινοφανών φυσικών προϊόντων που έχουν παράσχει την βάση και την έμπνευση για ημισυνθέσεις και ολικές συνθέσεις νέων, αποτελεσματικών, φαρμάκων. Σε μία κατηγοριοποίηση με βάση την προέλευση τους, τα φάρμακα ταξινομούνται ως :

- ***N (natural product)***, ως μη τροποποιημένο φυσικό προϊόν
- ***ND (modified natural product) ,*** ως τροποποιημένο φυσικό προϊόν
- ***S (synthetic compound),*** ως άκρως συνθετική ένωση

- ***S/NM ,*** ως συνθετική ένωση η οποία αναστέλλει την δράση του μητρικού φυσικού προϊόντος (μια υποκατηγορία αυτών των ενώσεων αποτελούν και οι μιμητές φυσικών προϊόντων, ***NM*** ή ***natural mimic***)
- ***S*** * ***,*** ως συνθετική ένωση που εμπεριέχει το φαρμακοφόρο κέντρο του μητρικού φυσικού προϊόντος
- ***S*** ****/NM,*** ως συνθετική ένωση που εμπεριέχει το φαρμακοφόρο κέντρο του φυσικού προϊόντος και αναστέλλει την δράση του μητρικού προϊόντος

Από τις καταχωρήσεις ουσιών ως *νέες χημικές οντότητες (new chemical entities, NCE),* οι οποίες ουσίες αποτελούν τα φάρμακα που εμπεριέχουν δραστικό «χημικό τμήμα» και τα οποία δεν έχουν καταχωρηθεί από τον οργανισμό φαρμάκων των ΗΠΑ (FDA), την περίοδο 1981-2008 προκύπτει ότι το 67% των ενώσεων είναι συνθετικές. Από αυτό το ποσοστό, το 18% ανήκει στην τάξη των ενώσεων S^{*} και S^{*}/NM, ενώ το 13% ανήκει στην κατηγορία των ενώσεων S/NM. Όμως το ποσοστό των άκρως συνθετικών ενώσεων, δηλαδή αυτών που χαρακτηρίζονται ως S, αποτελεί το 37% της συγκεκριμένης έρευνας.

Διαχωρίζοντας τα καταχωρημένα φάρμακα με βάση την αντιμετώπιση ασθένειας εκείνης της περιόδου, το 68.3% των αντιλοιμωδών φαρμάκων (αντιπαρασιτικά, αντιμυκητιακά, αντιβακτηριδιακά, αντιϊικά) ανήκουν στην κατηγορία των παραγώγων των φυσικών προϊόντων ή των βιοεμπνευσμένων (N, ND, S*, S*/NM, S/NM), ενώ στην κατηγορία των αντικαρκινικών, το 79.8% ανήκει στις προαναφερθείσες κατηγορίες (N, ND, S*, S*/NM, S/NM).[16]

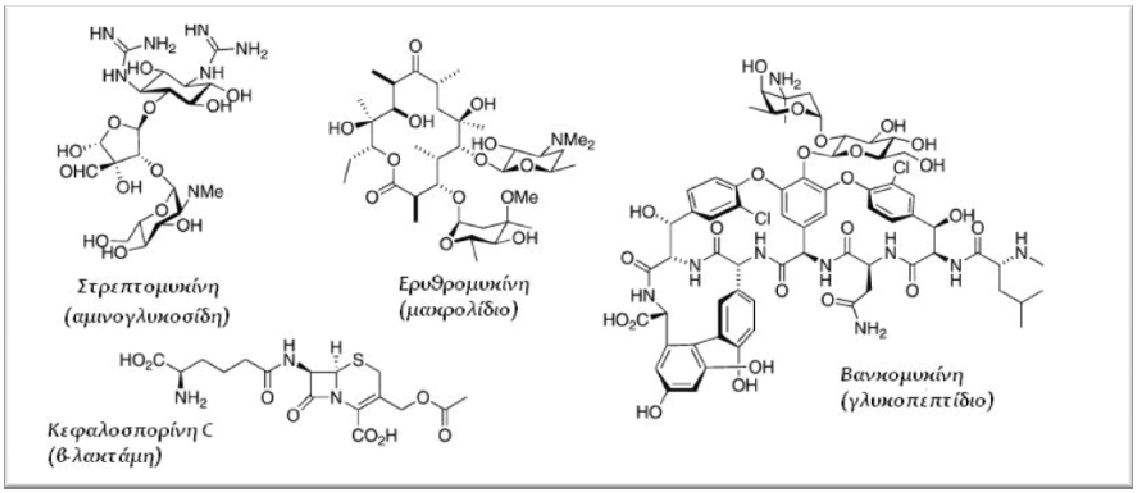


Εικόνα 25. *διαχωρισμός των φαρμάκων με βάση τα φυσικά προϊόντα και τις συνθέσεις πάνω σε αυτά. Το παρών διάγραμμα απεικονίζει τα καταχωρημένα φάρμακα, ως* ***νέες χημικές οντότητες*** *κατά FDA, την περίοδο 1981-2007*[16]

Στην συνέχεια, αναφέρονται ορισμένα χαρακτηριστικά φυσικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται ως φαρμακευτικά παρασκευάσματα αντιβιοτικά, αντικαρκινικά και με δράση στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ).

Φυσικά προϊόντα ως αντιβιοτικά

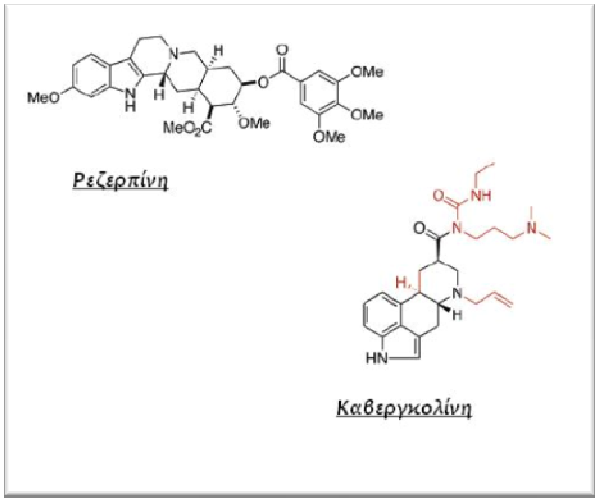
Πολλά από τα σημερινά αντιβιοτικά που διατίθενται ως φαρμακευτικά σκευάσματα ανήκουν σε γνωστές κατηγορίες φυσικών προϊόντων όπως οι β-λακτάμες (***πενικιλίνη*** και ***κεφαλοσπορίνη C***), τα μακρολίδια (***ερυθρομυκίνη***), οι αμινογλυκοσίδες (***στρεπτομυκίνη***) και τα γλυκοπεπτίδια (***βανκομυκίνη***).



Εικόνα 26. *μοριακές δομές των φυσικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται ως αντιβιοτικά*[15]

Φυσικά προϊόντα ως φάρμακα για το ΚΝΣ (Κεντρικό Νευρικό Σύστημα)

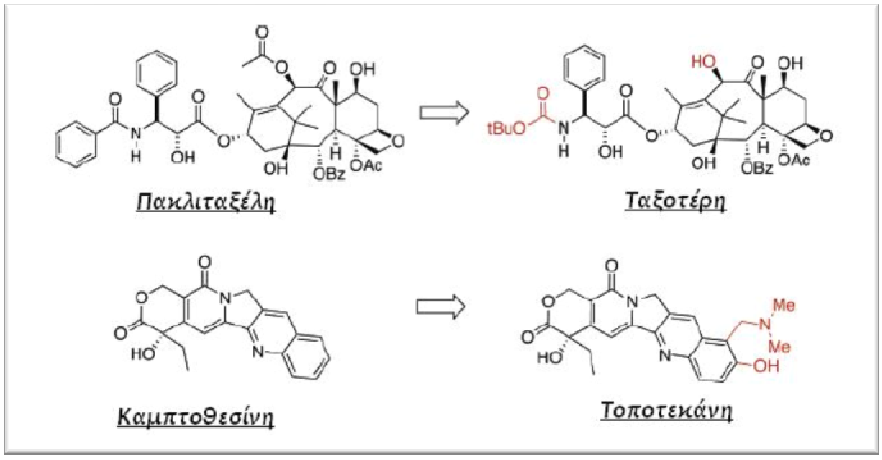
Αξιοσημείωτα παραδείγματα αυτής της κατηγορίας φαρμάκων αποτελούν το αλκαλοειδές υοχιμβίνης, ***ρεζερπίνη*** που χρησιμοποιείται ως αντιϋπερτασικό και ως ηρεμιστικό αλλά και η ***καβεργκολίνη***, που χρησιμεύει στην θεραπεία για την νόσο του Parkinson. Η καβεργκολίνη είναι δομικό ανάλογο των αλκαλοειδών ερυσιβώδους ολύρας (ergot alkaloids). Η ομάδα αυτών των αλκαλοειδών δεν έχει βρει ευρεία κλινική εφαρμογή λόγω της πολυπλοκότητας της δράσης τους. Ωστόσο η καβεργκολίνη, της οποίας ο κύριος δομικός κορμός είναι αρκετά παρόμοιος με αυτόν του λυσεργικού οξέος, είναι μία από τις πολλές ενώσεις που η δημιουργία τους έχει εμπνευσθεί από τα προαναφερθέντα αλκαλοειδή και οι οποίες έχουν επιδείξει ευρεία, κλινικά χρήσιμη, δραστικότητα.



Εικόνα 27. *μοριακές δομές* ***ρεζερπίνης*** *και* ***καβεργκολίνης***[15]

Φυσικά προϊόντα ως αντικαρκινικά φάρμακα

Πολλά από τα γνωστά φυσικά προϊόντα, έχει αποδειχθεί ότι κατέχουν ιδιαίτερες αντικαρκινικές ιδιότητες. Σημειώνεται χαρακτηριστικά ότι σε μια πλήρη καταγραφή των αντικαρκινικών φαρμάκων την περίοδο 1981-2002, το 74% αυτών ήταν φυσικά προϊόντα, ενώσεις προερχόμενες ή και εμπνευσμένες από αυτές. Το δημοφιλέστερο αντικαρκινικό φάρμακο, οι συνθέσεις του οποίου αναλύονται σε επόμενο κεφάλαιο, είναι η ***πακλιταξέλη*** ή ***ταξόλη***. Άλλα παραδείγματα σε αυτήν την κατηγορία των φαρμάκων είναι η ***ταξοτέρη***, ένα ημισυνθετικό παράγωγο της ταξόλης και η ***τοποτεκάρη***, μια ένωση που έχει προέλθει από το φυσικό προϊόν ***καμπτοθεσίνη***. [15]



Εικόνα 28. *η* ***ταξοτέρη*** *αποτελεί ημισυνθετικό ανάλογο της* ***πακλιταξέλης****, ενώ η* ***τοποτεκάνη*** *είναι παράγωγο της* ***καμπτοθεσίνης***[15]

Συνθέσεις βασισμένες στα φυσικά προϊόντα

Ενώ οι δευτερογενείς μεταβολίτες συχνά εμφανίζουν ισχυρή και εκλεκτική βιοδραστικότητα, στην μεγάλη πλειοψηφία τους δεν επιλέγονται ως ουσίες που μπορούν να χρησιμεύσουν ως ανθρώπινα θεραπευτικά και ως εκ τούτου δεν έχουν τελειοποιηθεί ώστε να κατέχουν την κατάλληλη δραστικότητα, επιλεκτικότητα και τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες που είναι επιθυμητές να κατέχει ένα φάρμακο υπό κλινική δοκιμή. Η βελτιστοποίηση των ενώσεων, συνεπάγεται συχνά την τροποποίηση, την αφαίρεση ή την εισαγωγή λειτουργικών ομάδων ακόμη και την αναδιαμόρφωση του δομικού σκελετού με σκοπό την βελτίωση των φυσικοχημικών και των φαρμακευτικών ιδιοτήτων της ένωσης.

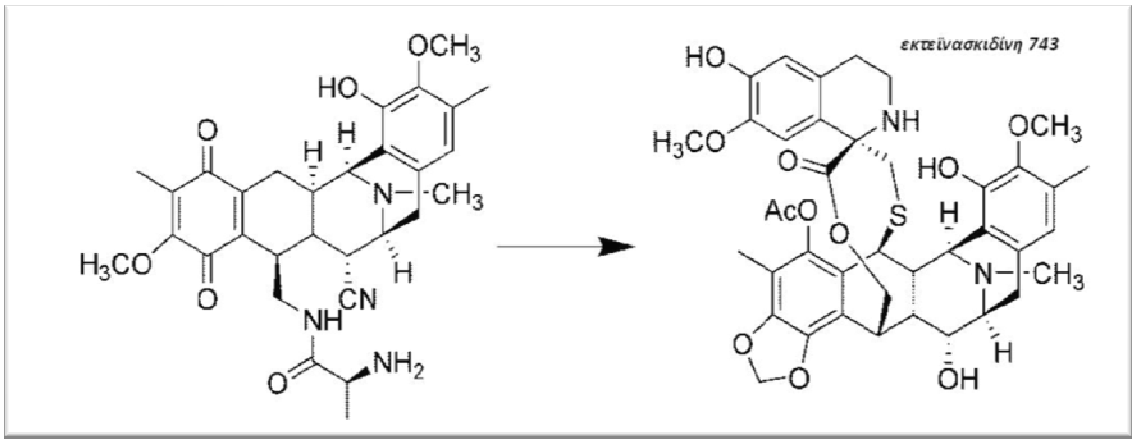
Οι κυριότερες προσεγγίσεις της συνθετικής οργανικής χημείας για την παρασκευή συνθετικών ενώσεων που σχετίζονται με τα φυσικά προϊόντα είναι η ημισύνθεση, η ολική σύνθεση και η εκτρεπόμενη ολική σύνθεση οι οποίες και αναλύονται στην συνέχεια.

Παραγωγοποίηση και ημισύνθεση

Πιθανώς, η πιο απλή προσέγγιση για την βελτιστοποίηση ενός φυσικού προϊόντος, είναι η τροποποίηση της δομής του με έναν μετασχηματισμό λειτουργικής ομάδας . Αυτό μπορεί να επιτευχθεί είτε χημικά, είτε με ενζυμικές μεθόδους. Έτσι μπορεί να παραχθεί μια μεγάλη γκάμα δομικών αναλόγων μέσω τέτοιων *ημισυνθετικών* προσεγγίσεων. Η μέθοδος αυτή περιορίζεται αρκετά λόγω ασυμβατότητας πολλών λειτουργικών ομάδων με τις ήδη υπάρχουσες στο μόριο ή την έλλειψη μιας πραγματοποιήσιμης αντίδρασης. Επομένως, η δομική ποικιλομορφία των αναλόγων είναι περιορισμένη. Πολλά χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτής της μεθόδου αποτελούν οι ταξάνες, οι κομπρεταστατίνες και η καμπτοθεσίνη.

Σε πολλές περιπτώσεις το φυσικό προϊόν δεν είναι διαθέσιμο μέσω της βιομάζας του οργανισμού από τον οποίο παράγεται. Σε αυτές τις περιπτώσεις κάποιο άλλο φυσικό προϊόν μπορεί να χρησιμεύσει ως πρώτη ύλη για την

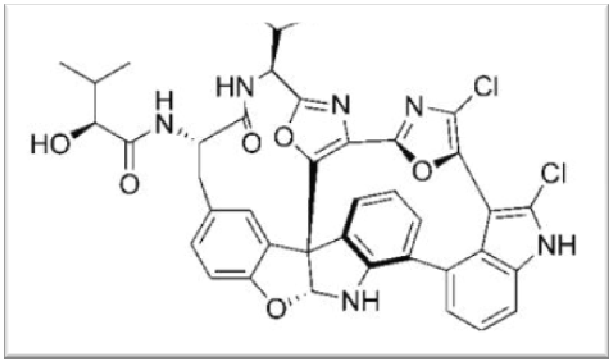
ημισύνθεση του αρχικού μορίου. Εκτός από το χαρακτηριστικό παράδειγμα της 10-δεακετυλομπακατίνης που χρησιμοποιήθηκε για να παρασκευαστεί συνθετικά η πακλιταξέλη , και το οποίο θα αναλυθεί σε επόμενο κεφάλαιο, ένα άλλο χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το πολύπλοκο αλκαλοειδές **εκτεϊνασκιδίνη 743** (Et 743) που προέρχεται από τον θαλάσσιο οργανισμό *Ecteinascidia turbinata* . Η λύση στο αποθεματικό πρόβλημα του αλκαλοειδούς ήρθε μέσω της ανάπτυξης μιας ημισύνθεσης ξεκινώντας από το μικροβιακό προϊόν **κυανοσαφρακίνη Β**.



Εικόνα 29. *η σύνθεση της **εκτεϊνασκιδίνης 743** επιτεύχθηκε ημισυνθετικά μέσω της **κυανοσαφρακίνης Β***[16]

Ολική σύνθεση

Η ολική σύνθεση φυσικών προϊόντων έχει δημιουργήσει προκλήσεις στις κορυφαίες ερευνητικές ομάδες συνθετικής οργανικής χημείας και έχει οδηγήσει τον τομέα σε εντυπωσιακή πρόοδο. Σε ορισμένες περιπτώσεις η σύνθεση έχει οδηγήσει σε αναθεώρηση της αρχικής δημοσιευμένης δομής, όπως για παράδειγμα στην ογκολυτική ένωση που εξάχθηκε από θαλάσσιο οργανισμό, ***διαζωναμίδη Α***.



Εικόνα 30. *μοριακή δομή της* ***διαζωναμίδης Α***[16]

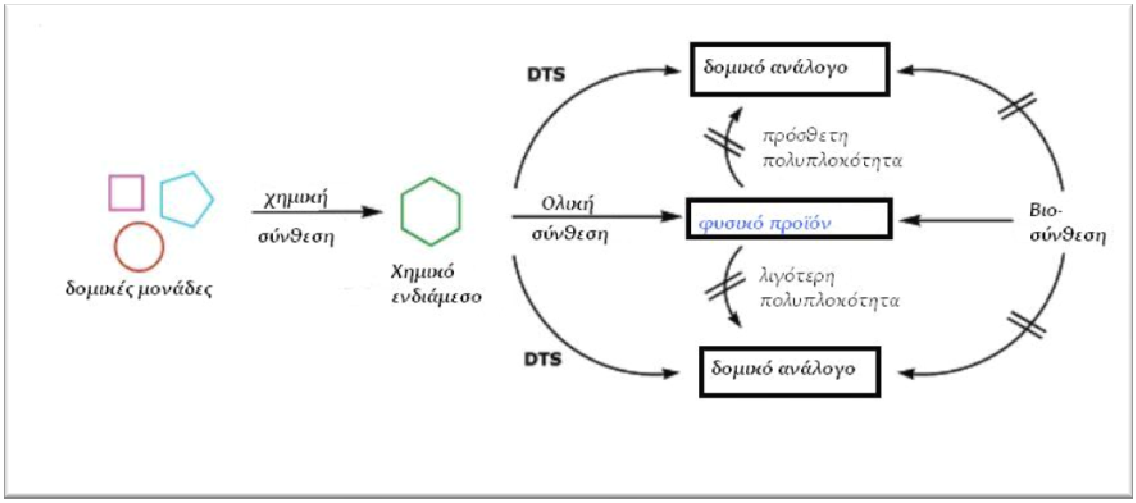
Σημαντικά βήματα έχουν γίνει στην σύνθεση και στην δομική τροποποίηση των ενώσεων που αποτελούν εν δυνάμει φάρμακα και που είναι δύσκολο να απομονωθούν σε επαρκείς ποσότητες για ανάπτυξη. Ο επαρκής ανεφοδιασμός μπορεί να αποτελέσει κρίσιμο παράγοντα για την περαιτέρω μελέτη της ένωσης σε προκλινικές και κλινικές δοκιμές και για αυτό το λόγο αρκετές ερευνητικές ομάδες έχουν εστιάσει στην εκπόνηση οικονομικών και εφικτών στρατηγικών σύνθεσης.[16]

Εκτρεπόμενη ολική σύνθεση

Η πλέον ευέλικτη προσέγγιση για την παρασκευή ενός αναλόγου είναι ο σχεδιασμός μιας συνθετικής διαδρομής για την σύνθεση ενός δεδομένου φυσικού προϊόντος που επιτρέπει την εισαγωγή διαθρωτικών τροποποιήσεων καθώς, η σύνθεση περνά από το ένα στάδιο στο άλλο έως ότου παραχθεί το μόριο-στόχος. Η σύνθεση αυτή ονομάζεται εκτρεπόμενη ολική σύνθεση (***d****iverted* ***t****otal* ***s****ynthesis or* ***DTS***). Η κεντρική ιδέα της ανάπτυξης αυτής της σύνθεσης, έγκειται στον προβληματισμό ότι μάλλον τα ίδια τα φυσικά προϊόντα δεν έχουν τελειοποιηθεί καταλλήλως για να θεωρούνται φάρμακα. Έτσι η βελτιστοποίηση αυτών των μικρομορίων απαιτεί την ύπαρξη μιας λειτουργικής βιοσυνθετικής οδού. Σε κάποιο βαθμό όμως αναγνωρίζεται ότι τα φυσικά προϊόντα παρουσιάζουν τις φαρμακοφόρες ιδιότητες που αποτελούν το κλειδί για την «επίθεση» στους στόχους τους. Η εκτρεπόμενη ολική σύνθεση, λαμβάνει υπόψη ότι πολλοί δομικοί μετασχηματισμοί των φυσικών προϊόντων οι οποίοι λαμβάνονται υπόψη για την

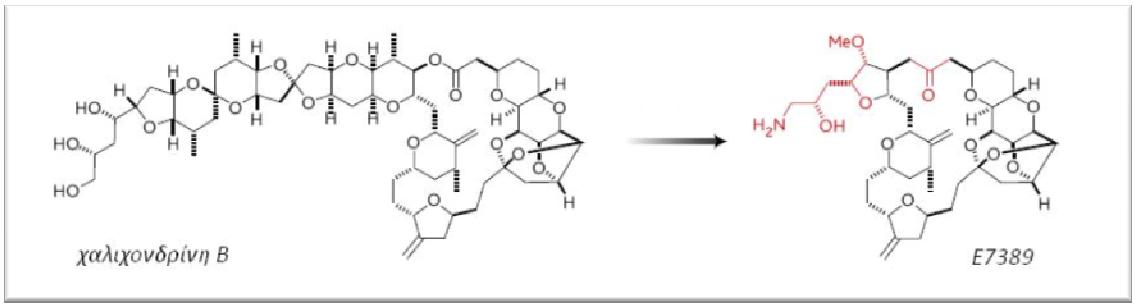
βελτιστοποίηση των μορίων, δεν μπορούν να πραγματοποιηθούν λόγω των υψηλών απαιτήσεων και των «τρωτών σημείων» των λειτουργικών ομάδων που απαρτίζουν το μόριο ή λόγω έλλειψης εφικτών αντιδράσεων.[17]

Η διαδικασία της ολικής σύνθεσης μπορεί να οδηγήσει στην ταυτοποίηση του φαρμακοφόρου κέντρου του μορίου δηλαδή <u>το τμήμα του μορίου που φέρει τα ουσιώδη χαρακτηριστικά που απαιτούνται για την δραστικότητα του</u>. Η γνώση αυτή, σε συνδυασμό με μία στρατηγική σύνθεσης μέσω της οποίας μπορεί να καταστεί δυνατή μια εισαγωγή διαρθρωτικών παραλλαγών, επιτρέπει την «μοριακή επεξεργασία» της περιττής δομικής πολυπλοκότητας. Σε μερικές περιπτώσεις, το αποτέλεσμα είναι η σύνθεση απλούστερων αναλόγων που διαθέτουν παρόμοια ή ακόμη και ισχυρότερη δραστικότητα από το φυσικό προϊόν. Η εκτρεπόμενη ολική σύνθεση περιλαμβάνει την σύνθεση ενός προηγμένου χημικού ενδιάμεσου το οποίο είναι λιγότερο περίπλοκο από το αρχικό φυσικό προϊόν και το οποίο μπορεί να επεξεργασθεί ώστε να αποδώσει πολλά ανάλογα, ποικίλης πολυπλοκότητας και τα οποία περιέχουν την κοινή φαρμακοφόρα περιοχή. Η σύνθεση αυτή μπορεί να επιτευχθεί είτε μέσω της συμβατικής φαρμακευτικής χημείας είτε μέσω προσεγγίσεων της συνδυαστικής χημείας. [16]



Εικόνα 31. *Σχηματική αναπαράσταση σύνθεσης δομικών αναλόγων των φυσικών προϊόντων μέσω της <u>ολικής σύνθεσης</u>, της <u>εκτρεπόμενης ολικής σύνθεσης</u> (diverted total synthesis-DTS) και <u>βιοσύνθεσης</u>*[15]

Ένα εξαιρετικό παράδειγμα υποψήφιου φάρμακου εμπνευσμένο από φυσικό προϊόν, με την ανάπτυξη του να προέρχεται από μια ολική σύνθεση, αποτελεί ο ισχυρός ογκολυτικός παράγοντας E7389 το οποίο βρίσκεται στην φάση I κλινικών δοκιμών. Η ένωση αυτή προέκυψε από εκτεταμένες μελέτες για την ολική σύνθεση της *χαλιχονδρίνης B*, ένα ιδιαίτερα κυτταροτοξικό και πολύπλοκο θαλάσσιο φυσικό προϊόν. Ο Zheng και οι συνεργάτες του τροποποίησαν την ισχύουσα διαδρομή για την αναλογική σύνθεση της *χαλιχονδρίνης B* και ανακάλυψαν πως η αποκοπή μεγάλου τμήματος του μορίου της δεν είχε αρνητικές επιπτώσεις στις αντιμιτωτικές ιδιότητες. Η συνολική απόδοση της σύνθεσης του αναλόγου E7389 ήταν περίπου 1%,

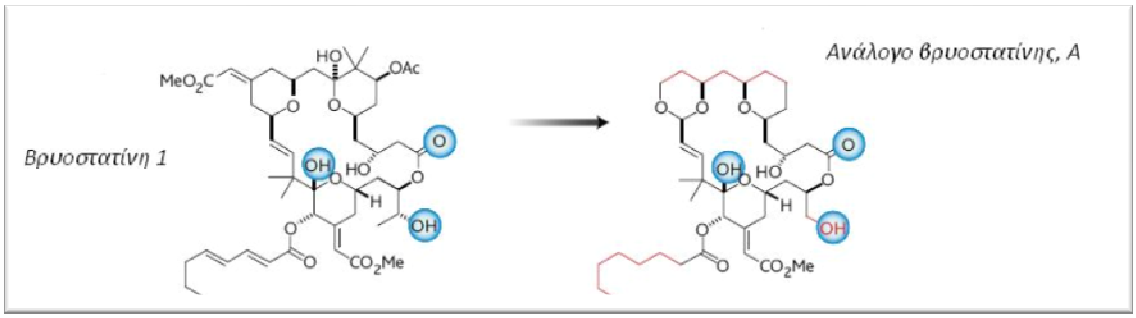


Εικόνα 32. *δομικές τροποποιήσεις υποδειγματικών φυσικών προϊόντων, μπορούν να οδηγήσουν σε βιολογικά αποτελεσματικά υποψήφια φάρμακα : χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το ανάλογο της* ***χαλιχονδρίνης B****, E7389*[17]

Το συμπέρασμα από την σύνθεση που αναφέρθηκε είναι το γεγονός ότι <u>το ανάλογο μπορεί να συντεθεί πιο εύκολα από ότι το μητρικό φυσικό προϊόν</u>. Στην πραγματικότητα αυτός είναι και ένας από τους κύριους στόχους της αναλογικής σύνθεσης : του σχεδιασμού δηλαδή, ενός σύνθετου αναλόγου που διατηρεί ή ακόμη και βελτιώνει την βιολογική δραστηριότητα του αρχικού φυσικού προϊόντος, ενώ ταυτόχρονα μέσω της διαδικασίας θα εξαλείφεται η περιττή μοριακή πολυπλοκότητα.

Ένα ακόμη συναρπαστικό παράδειγμα σχεδιασμού βίο-εμπνευσμένου φαρμάκου που ενσαρκώνει την έννοια της διαρθρωτικής απλούστευσης είναι η ανάπτυξη των αναλόγων βρυοστατίνης από τον Wender και τους συνεργάτες του.

Η μελέτη του τρόπου δράσης της βρυοστατίνης 1, οδήγησε στην υπόθεση ότι ένα μεγάλο μέρος της δομής λειτουργούσε ως σκελετός για την θέση των τριών ατόμων οξυγόνου (επισημαίνονται με μπλε στο σχήμα), μέσα στην φαρμακοφόρα περιοχή. Η απλοποίηση του δομικού σκελετού οδήγησε στο συνθετικό ανάλογο Α, το οποίο διαπιστώθηκε ότι είναι πιο δραστικό από την ίδια την βρυοστατίνη 1.[17]



Εικόνα 33. *άλλο ένα παράδειγμα δομικής τροποποίησης φυσικού προϊόντος :στην περίπτωση της **βρυοστατίνης 1**, το τροποποιημένο ανάλογο Α είναι πιο δραστικό από την μητρική φυσική ουσία (οι μπλε κύκλοι τονίζουν τις προτεινόμενες θέσεις αλληλεπίδρασης φαρμάκου-στόχου)*[17]

Κεφάλαιο 4

Ολική σύνθεση φυσικών προϊόντων : μια πρόκληση για την συνθετική οργανική χημεία

Η ολική σύνθεση αποτελεί προσέγγιση της συνθετικής οργανικής χημείας στην παραγωγή ενώσεων που μοιάζουν δομικά με τα φυσικά προϊόντα και σίγουρα κατέχουν την ίδια δραστικότητα. Αποτελεί σημαντικό κομμάτι της δουλειάς πολλών ερευνητικών ομάδων ανά τον κόσμο και σίγουρα εμφανίζει ενδιαφέρον.

Η ανάπτυξη αυτού του κεφαλαίου επεκτείνεται στην περιγραφική ανάλυση ολικών συνθέσεων δύο φυσικών προϊόντων που έχουν δείξει ισχυρή αντικαρκινική δραστικότητα, της ***ταξόλης*** και της ***βρυοστατίνης 1***. Κύριος σκοπός του, να επισημανθεί η μεγάλη σημασία της ολικής σύνθεσης πολύπλοκων φυσικών προϊόντων στην οργανική χημεία αλλά και να δειχθεί η μεγάλη σε βήματα (στάδια) διαδικασία, η χρήση πολλών αντιδραστηρίων και η χαμηλή συνολική απόδοση τους.

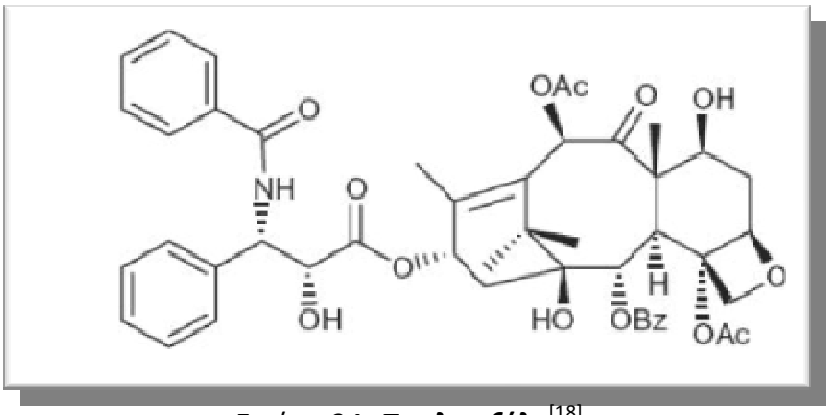
Ταξόλη

Εισαγωγή

Η ιστορία της ***ταξόλης*** εκτείνεται σε διάρκεια 40 ετών από την ανακάλυψη ενός δυνητικού παράγοντα ενάντια στους όγκους, μέχρι την ανάπτυξη εμπορικά βιώσιμων μέσων παραγωγής ενός *δραστικού φαρμακευτικού συστατικού (**A**ctive **P**harmaceutical **I**ngredient = το συστατικό ενός φαρμακευτικού σκευάσματος ή ενός φυτοφαρμάκου, που είναι βιολογικά ενεργό)* που εξακολουθεί να χρησιμοποιείται ευρέως στο «οπλοστάσιο» του ογκολόγου.

Η **ταξόλη** είναι ένα φυσικό προϊόν που έχει επηρεάσει την ζωή εκατοντάδων χιλιάδων ανθρώπων . Από το 1992, αποτελεί το δραστικό φαρμακευτικό συστατικό σε ορισμένα χημειοθεραπευτικά μέσα που παρέχονται σε ασθενείς που πάσχουν από διάφορες μορφές καρκίνου, ενώ έχει εγκριθεί για τις θεραπείες του καρκίνου των ωοθηκών, του μαστού, του πνεύμονα και του σαρκώματος Kaposi που σχετίζεται με το AIDS σε περισσότερες από 50 χώρες.

Το ***Taxol®*** είναι το εμπορικό σήμα που δόθηκε στο *πολύπλοκο μικρό μόριο της* **πακλιταξέλης** .Η μοριακή πολυπλοκότητα της πακλιταξέλης είναι εμφανής στον τετρακυκλικό πυρήνα και τα δέκα χειρόμορφα κέντρα.



Εικόνα 34. ***Πακλιταξέλη***[18]

<u>Η ανακάλυψη και η πρόωρη ανάπτυξη</u>

Η **ταξόλη** (ή Taxol ®) έχει ένα πολύ ασυνήθιστο κλινικό ιστορικό ανάπτυξης. Όπως και με πολλά φυσικά προϊόντα που έχουν ανακαλυφθεί για να παρέχουν θεραπευτικό όφελος για τον άνθρωπο, η **ταξόλη** προήλθε από το εκχύλισμα ενός φυτού που έδωσε πρώτα την ένδειξη δράσεων ενάντια σε όγκους. Οι χημικοί που μελετούν τα φυσικά προϊόντα, συνήθως υποβάλλουν τα καθαρά εκχυλίσματα των φυτών σε έρευνα για την ανακάλυψη της θεραπευτικής τους δυνατότητας . Το 1963, ένα τμήμα από το φλοιό ενός κωνοφόρου δένδρου του Ειρηνικού, ονόματι *Ίταμος (Taxus brevifolia),* έδειξε δράση ενάντια σε όγκους. Αυτό το πρώιμο έργο πραγματοποιήθηκε από τους Monroe Wall και Monskuh Wani του Research Triangle Institute (RTI) υπό την αιγίδα του Εθνικού Ινστιτούτου για τον Καρκίνο.

Εικόνα 35. Ο *ταξός* του Ειρηνικού, *Taxus Brevifolia και λεπτομέρεια από το φλοιό του δένδρου*[18]

Ο Dr.Wall προσελήφθη από το RTI για να δημιουργήσει ένα πρόγραμμα χημείας και μία ομάδα φυσικών προϊόντων, πάνω στα οποία εφάρμοσε την εμπειρία του στην απομόνωση μικρών ποσοτήτων των φυσικών προϊόντων από φυτά και τις πρωτοποριακές τεχνικές για απομόνωση φαρμακευτικών μεταβολιτών. Το 1964, του δόθηκε το πρώτο δείγμα από φύλλα, κλαδιά και φλοιό του *Ίταμου* από τον Ειρηνικό, ονόματι *Taxus Brevifolia. Τότε,* αυτός και ο συνάδελφος του Dr. Monsukh Wani, βρήκαν και απομόνωσαν το ενεργό συστατικό του δένδρου, το 1966. Ο Dr.Wall το ονόμασε Taxol. Οι δύο επιστήμονες δημοσίευσαν την χημική δομή της **ταξόλης** το 1971.

Η πρώτη φάση των κλινικών δοκιμών της ταξόλης ξεκίνησε το 1983 και σύντομα κατέστη σαφές ότι οι ποσότητες που απαιτούνται για τις δοκιμές, καθώς και οι προβλεπόμενες εμπορικές ποσότητες που θα απαιτούνταν βάσει της εξαιρετικής απόδοσης του φαρμάκου, επρόκειτο να αποτελέσουν σημαντικό πρόβλημα. Μέχρι εκείνο το σημείο, η ταξόλη συνέχισε να απομονώνεται από τον φλοιό του δένδρου που είχε ανακαλυφθεί στον Ειρηνικό, το οποίο περιέχει μόνο 0,0004 % **πακλιταξέλη**. Αυτό το μόριο, είναι ένας δευτερογενής μεταβολίτης που παράγεται από το δένδρο ως αμυντικός μηχανισμός ενάντια στα έντομα και τους μύκητες. Ο φλοιός, κατάλληλα επεξεργασμένος για την εξαγωγή της ταξόλης, αποτελεί κρίσιμης σημασίας για εκείνα τα δένδρα, όπως ο ίταμος, τα οποία χρειάζονται μέχρι και 200 χρόνια για να ωριμάσουν. Επιπλέον, τα ίδια δένδρα αποτελούν τον σημαντικό βιότοπο της , απειλούμενης με εξαφάνισης, κουκουβάγιας του γένους *Northern Spotted Owl (Strix accidentalis caurina).*

Όταν το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου των ΗΠΑ δημοσίευσε τα αποτελέσματα των κλινικών δοκιμών της δεύτερης φάσης της δράσης της ταξόλης ενάντια στις πιο παθογενείς μορφές καρκίνου των ωοθηκών, το 1988 ,η ζήτηση για το φάρμακο εκτινάχτηκε στα ύψη. Ταυτόχρονα, περιβαλλοντολόγοι στο Όρεγκον κατάφεραν να μετατρέψουν την τεράστιου βαθμού καταστροφή των δέντρων στον Ειρηνικό, σε ένα ιδιαίτερα εμφανές πολιτικό ζήτημα. *Σαφώς, η ανάγκη για ανάπτυξη μιας*

περισσότερο βιώσιμης και παραγωγικής πηγής της ταξόλης, αποτελούσε το κλειδί για την αξιοποίηση των δυνατοτήτων αυτού του καινοτόμου φαρμάκου. [18]

Ολική σύνθεση της ταξόλης

Η αδυναμία της εξασφάλισης των απαραίτητων ποσοτήτων ταξόλης, εξαρχής, έθεσε το ερώτημα του κατά πόσο είναι δυνατή μια ολική σύνθεση της ένωσης. Δηλαδή μιας σύνθεσης, όπου θα γινόταν χρήση απλών (μικρομοριακών) και εμπορικά διαθέσιμων χημικών ουσιών, ως πρώτων υλών.

Εξαρχής οι επιστήμονες που ασχολήθηκαν με την ολική σύνθεση της ταξόλης δεν έτρεφαν αυταπάτες. Σε καμιά περίπτωση, οποιοδήποτε σχήμα ολικής σύνθεσης δεν θα μπορούσε να οδηγήσει σε μια "οικονομικώς βιώσιμη" παρασκευή της ουσίας σε μεγάλες ποσότητες. Η ολική σύνθεση ήταν περισσότερο ένα είδος "επιστημονικής πρόκλησης" και ένα πεδίο δοκιμών, βελτίωσης των υπαρχουσών τεχνικών οργανικής σύνθεσης και εισαγωγής νέων, αλλά και ένα πεδίο ανταγωνισμού των μεγαλύτερων συνθετικών οργανικών χημικών της εποχής μας.

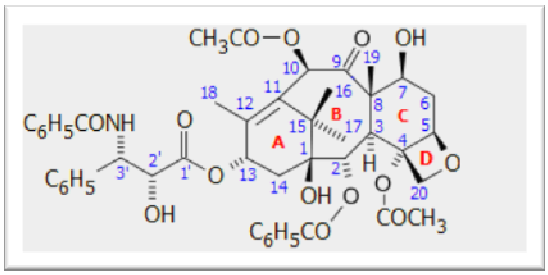
Θα πρέπει να τονιστεί ότι η ολική σύνθεση της ίδιας της ταξόλης δεν έχει μόνο θεωρητικό ενδιαφέρον ("σύνθεση για τη σύνθεση"). Οι συνθέσεις αυτές, εύκολα μπορούν να τροποποιηθούν σε κάποια στάδιά τους και να οδηγήσουν σε τροποποιημένες μορφές ταξόλης, που συλλογικά αναφέρονται ως **ταξοειδή** (taxoids). Πολλά ταξοειδή θα μπορούσαν να αποδειχθούν κατά πολύ δραστικότερες από την ίδια.

Κατά τη δεκαετία του 1990, ασχολήθηκαν με την ολική σύνθεση της ταξόλης περίπου 30 ερευνητικές ομάδες σε όλο τον κόσμο. Αυτές οι συνθέσεις της ταξόλης περιλαμβάνονται πλέον στις αριστουργηματικές και μνημειώδεις οργανικές συνθέσεις.

Εδώ περιγράφονται μόνο οι αρχές των συνθετικών οδών που ακολούθησαν ανεξάρτητα μεταξύ τους οι ερευνητικές ομάδες των καθηγητών **Holton**, **Nicolaou** και **Danishefsky**. Η παρουσίαση είναι εκ των πραγμάτων εξαιρετικά συνοπτική λόγω των πολλών σταδίων (δεκάδες ενδιάμεσα

στάδια) και των απαιτούμενων εξαιρετικά εξειδικευμένων γνώσεων σε θέματα σύγχρονης οργανικής σύνθεσης και των ιδιοτήτων πλήθους σύγχρονων ειδικών αντιδραστηρίων εναντιοεκλεκτικής σύνθεσης.

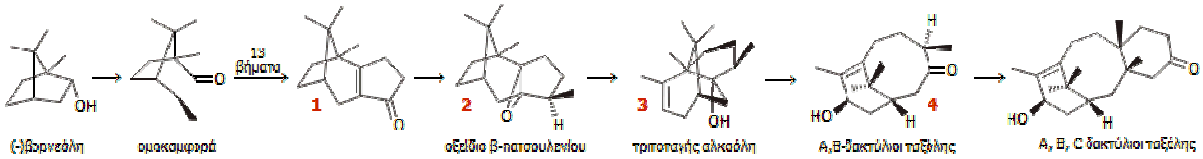
Ας σημειωθεί ότι η ταξόλη έχει έναν πυρήνα ταξανίου, που αποτελείται από δύο εξακυκλικούς δακτύλιους (A και C) που είναι σχεδόν κάθετοι σε έναν τρίτο οκτακυκλικό δακτύλιο (B).



Εικόνα 17. *Αρίθμηση των ατόμων του άνθρακα της ταξόλης. Το κεντρικό τμήμα του μορίου είναι ένα ταξάνιο, δηλαδή ένα σύστημα δύο εξαμελών δακτυλίων (A,C) σχεδόν κάθετα τοποθετημένων σε ένα οκταμελή δακτύλιο (B)*

<u>Σύνθεση κατά Holton.</u>

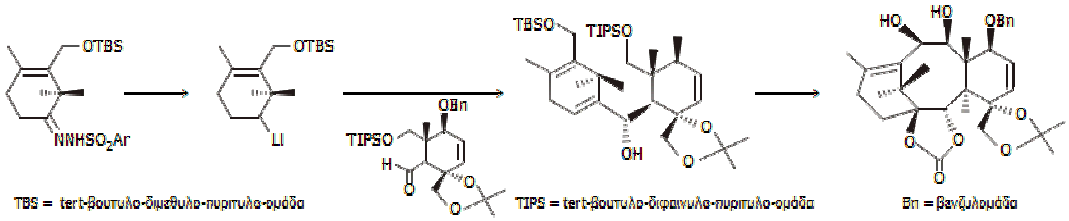
Το 1994, η ομάδα του Holton χρησιμοποίησε μια **γραμμική** (linear) συνθετική οδό, δηλαδή σταδιακές αλλαγές και προσθήκες σε ένα αρχικό μόριο. Χρησιμοποίησε τη φυσική ουσία (-)βορνεόλη ως πρώτη ύλη, την οποία μετέτρεψε στην ακόρεστη κετόνη **1** σε 13 στάδια. Στην **1** πραγματοποιείται εισαγωγή της εποξειδικής ομάδας για να ληφθεί η ένωση **2**, το **οξείδιο του β-πατσουλενίου** (β-patsoulene), μια εμπορικά διαθέσιμη φυσική ένωση, παράγωγο της **πατσουλόλης**, συστατικού του αρωματικού αιθέριου ελαίου **πατσουλί**. Η **2** ήδη περιέχει τα 15 από τα 20 άτομα άνθρακα του συστήματος των δακτυλίων ABCD. Η **2** μετά από σκελετική αντιμετάθεση παρέχει την τριτοταγή αλκοόλη **3**. Η **3** με νέα εποξείδωση και θραυσματοποίηση οδηγεί στην ένωση **4** που περιλαμβάνει πλέον το χαρακτηριστικό σύστημα των δακτυλίων A και B της ταξόλης. Ακολουθεί εισαγωγή του δακτυλίου C με τη μεθοδολογία σχηματισμού δακτυλίου Robinson-Stock. Τέλος, μέσα από σειρά αντιδράσεων για τον σχηματισμό D-δακτυλίου της ένωσης λαμβάνεται το συνθετικό μόριο με συνολική απόδοση της τάξης 4-5 %.[19]



Εικόνα 36. *Ολική σύνθεση ταξόλης κατά Holton*[19]

<u>*Σύνθεση κατά Nicolaou*</u>

Το 1994, η ομάδα του Nicolaou χρησιμοποίησε μια **συγκλίνουσα** (convergent) συνθετική οδό. Οι δακτύλιοι A και C παρασκευάστηκαν χωριστά (συνθόνες) και στη συνέχεια συνδέθηκαν μεταξύ τους μέσω μιας αντίδρασης Shapiro (μετατροπή κετόνης ή αλδεΰδης σε αλκένιο, μέσω ενδιάμεσου σχηματισμού υδραζόνης). Ακολούθησε μια σύζευξη McMurry (σύζευξη δύο καρβονυλικών ενώσεων προς σχηματισμό αλκενίου, γνωστή και "πινακολινική σύζευξη") για να "κλείσει" ο οκταμελής δακτύλιος B. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η εισαγωγή του οξετανικού δακτυλίου D και η συνθόνη της "ουράς" (λακτάμη Ojima) του άνθρακα 13.

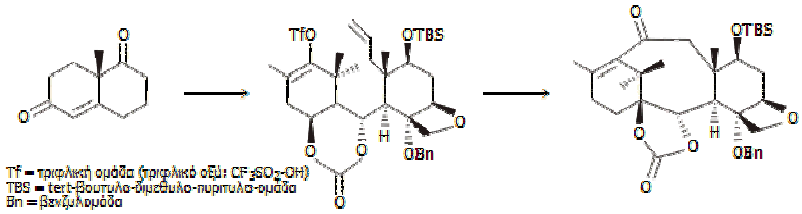


Εικόνα 37. *Ολική σύνθεση ταξόλης, κατά Nicolaou*[20]

Χρησιμοποιήθηκε ένα πλήθος αντιδραστηρίων ως πρώτες ύλες, ως προστατευτικά μέσα ομάδων κ.α. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται τα: βλενικό οξύ (mucic acid), 2-χλωροακρυλονιτρίλιο, υδρίδιο αργιλίου-λιθίου, φωσγένιο, γλυκολικό οξύ, βενζαλδεΰδη, εξαμεθυλοφωσφοραμίδιο (HMPA), προπιονικός αιθυλεστέρας, αλλυλική αλκοόλη, ακετόνη, ακετυλακετόνη, μεθυλοβρωμίδιο, οξικό οξύ, φαινυλολίθιο και χλωροχρωμικό πυριδίνιο. [20]

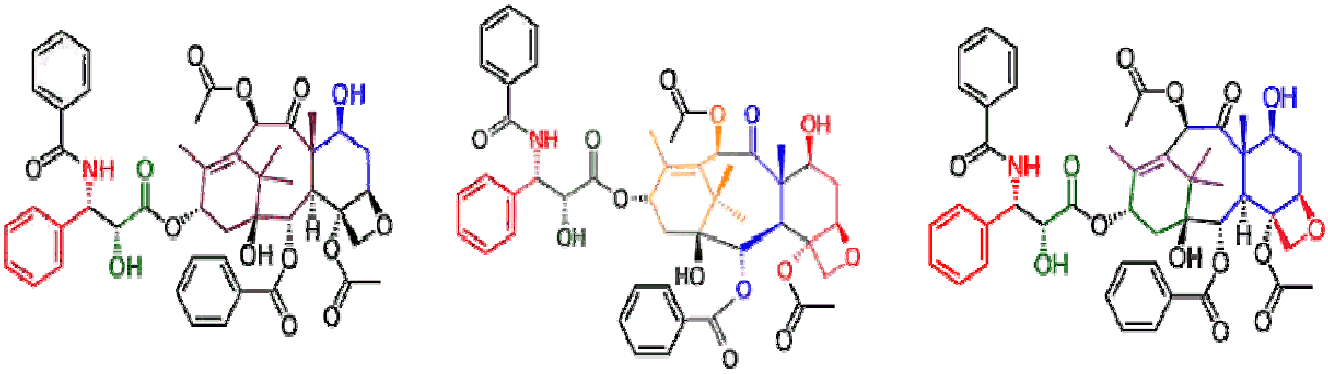
Σύνθεση κατά Danishefsky

Το 1996, η ομάδα του Danishefsky χρησιμοποίησε μια επίσης συγκλίνουσα συνθετική οδό με πολλές ομοιότητες με εκείνη της σύνθεσης της ομάδας Nicolaou. Μία από τις αρχικές ενώσεις ήταν η κετόνη Wieland-Miescher, μια εξαιρετικά χρήσιμη και εμπορικά διαθέσιμη συνθόνη, η οποία έχει χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο αριθμό ολικών συνθέσεων φυσικών προϊόντων. Μια επιπλέον διαφορά της συνθετικής πορείας -σε σχέση με τη σύνθεση της ομάδας Nicolaou- είναι η προηγούμενη εισαγωγή του οξετανικού δακτυλίου D, στον κυκλοεξανολικό δακτύλιο C, πριν από το "κλείσιμο" του κεντρικού οκταμελούς δακτυλίου B.



Εικόνα 38. *Ολική σύνθεση ταξόλης κατά Danishefsky*[21]

Και στη σύνθεση αυτή χρησιμοποιήθηκε ένα πλήθος αντιδραστηρίων ως πρώτες ύλες, ως προστατευτικά μέσα ομάδων κ.α., όπως τα: κετόνη Wieland-Miescher, 2-μεθυλο-3-πεντανόνη, υδρίδιο αργιλίου-λιθίου, τετροξείδιο του οσμίου, φαινυλολίθιο, ακρυλοϋλοχλωρίδιο και χλωροχρωμικό πυριδίνιο. Κύριες αντιδράσεις μετασχηματισμών ήταν η αντίδραση Johnson-Corey-Chaykovsky (μετατροπή καρβονυλικής ομάδας σε εποξειδική) και η αντίδραση Heck (εισαγωγή ομάδων σε αλκένια) . [21]

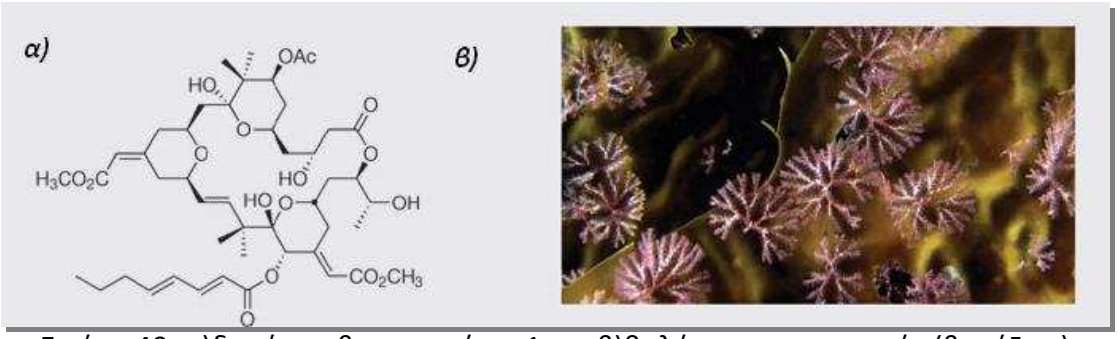


Εικόνα 39. *Συνοπτική παρουσίαση των ολικών συνθέσεων ταξόλης από τις ομάδες (από αριστερά προς τα δεξιά)* ***Holton-Nicolaou-Danishefsky*** *από άποψη "πρώτων υλών" :*
τα διάφορα χρώματα υποδεικνύουν τα τμήματα του μορίου της ταξόλης, που προέρχονται από διαφορετικές «πρώτες ύλες». Οι χημικοί τύποι ελήφθησαν από τις αναφορές που παρέχουν μια πολύ καλή παρουσίαση των επιμέρους σταδίων των συνθέσεων.

<u>Βρυοστατίνη 1</u>

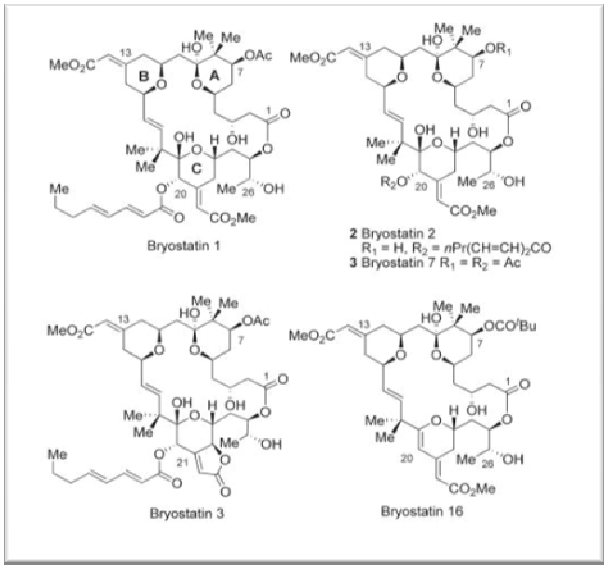
<u>Εισαγωγή</u>

Η βρυοστατίνη 1, είναι ένα ευρέως γνωστό φυσικό προϊόν που απομονώθηκε από τον θαλάσσιο οργανισμό *Bugula neritina, από τον Pettit και τους συνεργάτες του.*



Εικόνα 40. α)δομή της βρυοστατίνης 1 και β)θαλάσσιος οργανισμός (βρυόζωο) *Bugula neritina* [23]

Μέχρι τότε, πολλά «μέλη» της οικογένειας των ενώσεων βρυοστατίνες είχαν απομονωθεί και περίπου 20 από αυτά είναι πλέον γνωστά.



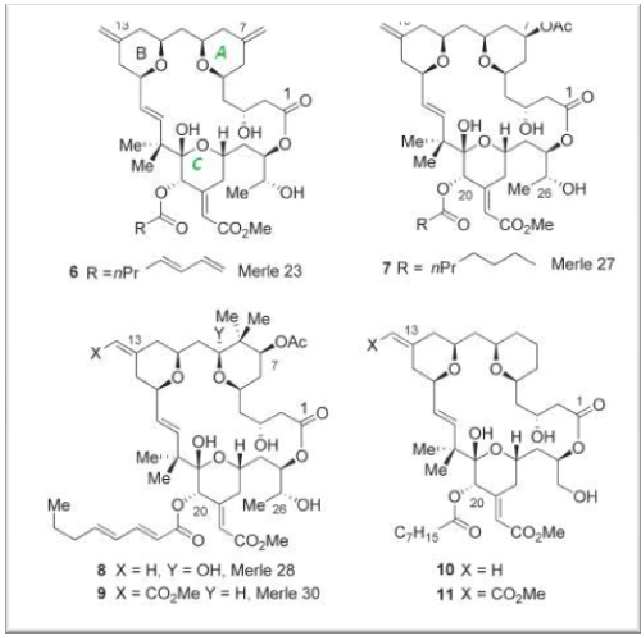
Εικόνα 41.*Δομές βρυοστατινών*[22]

Η επιστημονική κοινότητα έχει δείξει έντονο ενδιαφέρον για την ομάδα των βρυοστατινών και συγκεκριμένα για την βρυοστατίνη 1, χάρη στο ευρύ φάσμα βιοδραστικότητας που επιδεικνύει. Αυτή η ένωση έχει δείξει δραστικότητα ενάντια σε μια σειρά μορφών καρκίνου, ενώ έχει παρουσιάσει συνέργεια με πιστοποιημένους ογκολυτικούς παράγοντες όπως είναι το Taxol. Αυτά τα χαρακτηριστικά, έχουν οδηγήσει την βρυοστατίνη στην χρήση της σε κλινικές μελέτες παρά <u>το γεγονός ότι δεν υπάρχει ανανεώσιμη πηγή «εφοδιασμού», από την οποία μπορούν οι επιστήμονες να προμηθεύονται μεγάλες ποσότητες της</u>. Επιπλέον, το συστατικό αυτό ανέδειξε ελπιδοφόρα χημική δραστικότητα ενάντια σε άλλες ασθένειες και παθήσεις συμπεριλαμβανομένων του διαβήτη, του εγκεφαλικού επεισοδίου και της νόσου του Alzheimer.

Με βάση, λοιπόν, το προαναφερθέν ιστορικό της ένωσης, δεν αποτελούν έκπληξη οι έντονες προσπάθειες της ολικής σύνθεσης της βρυοστατίνης 1.

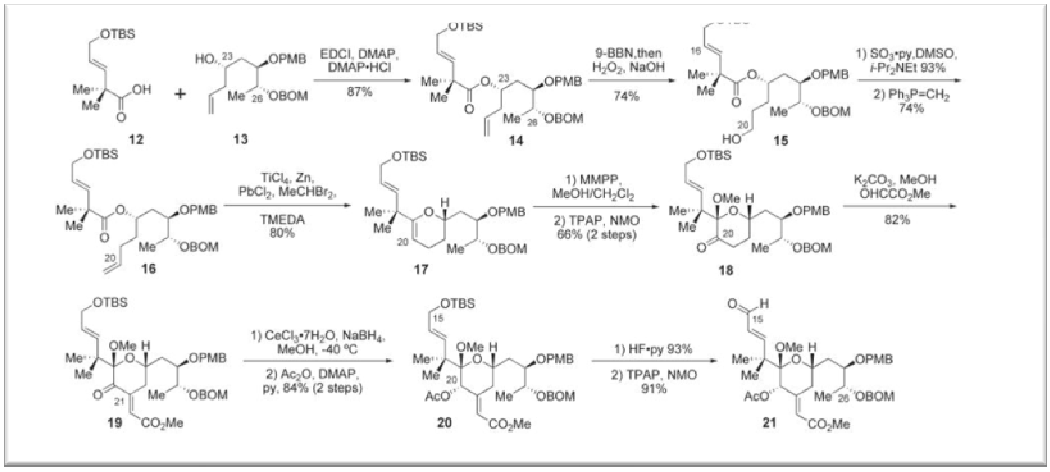
<u>Ολική σύνθεση της βρυοστατίνης 1</u>

Στην πρώτη ολική σύνθεση της βρυοστατίνης 1, όπως περιγράφεται από τον Gary E.Keck και τους συνεργάτες του, αρχικά παρασκευάστηκαν ενώσεις που αποτελούν δομικά ανάλογα των βρυοστατινών και ονομάστηκαν ***bryopyrans***, μέσω μιας κυκλοποίησης προς σχηματισμό πυρανικού δακτυλίου.



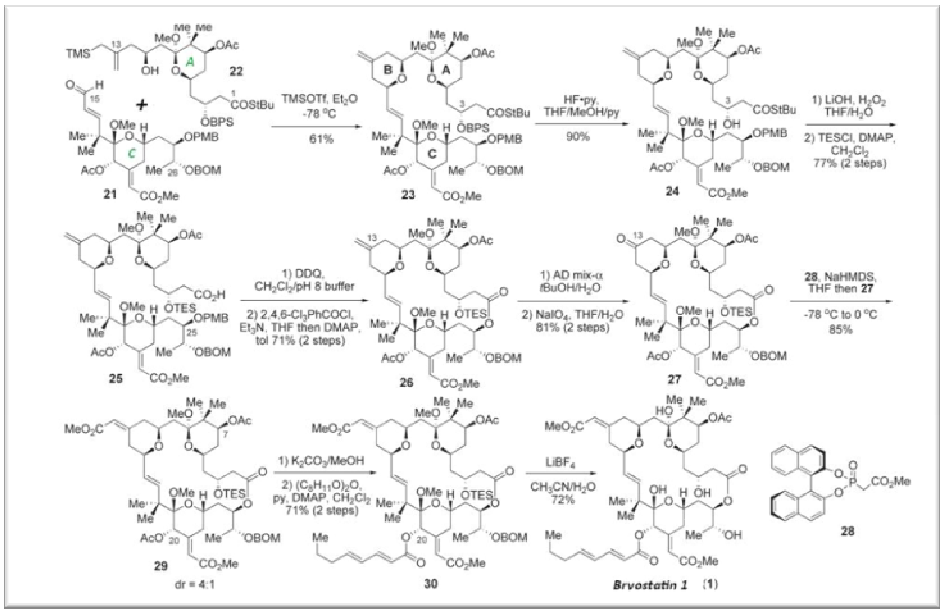
Εικόνα 42.*Δομές των ενώσεων που δομικά είναι ανάλογες των βρυοστατινών και ονομάζονται bryopyrans*[22]

Μέσα από μελέτες σύγκρισης των δομών των νέων παρασκευασμάτων, οι ερευνητές αποφάσισαν να αποπειραθούν να συνθέσουν την βρυοστατίνη 1, αφού πρώτα δημιουργούσαν μια αλδεΰδη που θα είχε τον C-δακτύλιο του ανάλογου bryopyran (η εικονιζόμενη ένωση 6) και ενός υδροξυαλλυλοπυριτίου που θα αποτελούνταν δομικά από τον A-δακτύλιο. Συνοπτικά, η αλδεΰδη -C δακτυλίου **21** συντάχθηκε μέσα από 18 βήματα (χημικές αντιδράσεις) , ενώ το υδροξυαλλυλοπυρίτιο – A δακτυλίου **22**, παράχθηκε μέσω αλλυλίωσης της αλδεΰδης.



Εικόνα 43.*Σύνθεση της αλδεΰδης C-δακτυλίου μέσω αντίδρασης μετάθεσης Rainier*[22]

Τέλος, μέσω της ένωσης της αλδεΰδης και του υδροξυαλλυλοπυριτίου που αναπτύσσεται σε 11 βήματα παράχθηκε η συνθετική βρυοστατίνη 1, που όπως διαπιστώθηκε μέσα από φασματοσκοπικές αναλύσεις, βρέθηκε να είναι ταυτόσημη με την εξαγόμενη εκ της φύσης ένωση.[22]



Εικόνα 44.*Ολική σύνθεση της βρυοστατίνης 1*[22]

Κεφάλαιο 5

Η ημισύνθεση φυσικών προϊόντων ως μερική λύση στο ποσοτικό πρόβλημα

Στο κεφάλαιο αυτό, περιγράφεται μια άλλη προσέγγιση της συνθετικής οργανικής χημείας, αυτής της ημισύνθεσης.

Σε σύγκριση με την ολική σύνθεση, η ημισύνθεση αποτελεί μια συντομότερη διαδικασία, ξεκινώντας από μία ένωση, είτε φυσική είτε συνθετική η οποία παρουσιάζει δομικές ομοιότητες με το επιθυμούμενο φυσικό προϊόν.

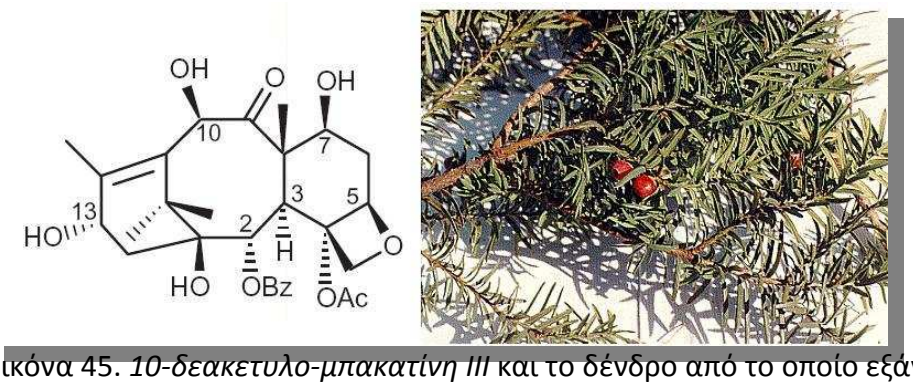
Παρά ταύτα, η συνολική απόδοση των ημισυνθέσεων δεν μπορεί να καλύψει το αποθεματικό πρόβλημα των φυσικών προϊόντων.

Τα δύο παραδείγματα που περιγράφονται είναι της ταξόλης και του στεροειδούς, cortistatin A ενώ αναφέρεται και η συμβολή της Πράσινης Χημείας στην παραγωγή της ταξόλης.

Ταξόλη

Η ταξόλη μελετήθηκε, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, από πολλές ερευνητικές ομάδες και πράγματι παράχθηκε συνθετικά. Όμως οι συνολικές αποδόσεις των συνθέσεων ανήκαν στην κατηγορία <20% ενώ πολλές από τις προσπάθειες τους απεδείχθησαν εμπορικά μη-βιώσιμες. Υπήρχαν ακόμη προβληματισμοί στους ερευνητικούς κύκλους, πως θα παρασκευαστούν μεγαλύτερες ποσότητες του διτερπενοειδούς ώστε να προμηθεύονται σε κλινικές δοκιμές.

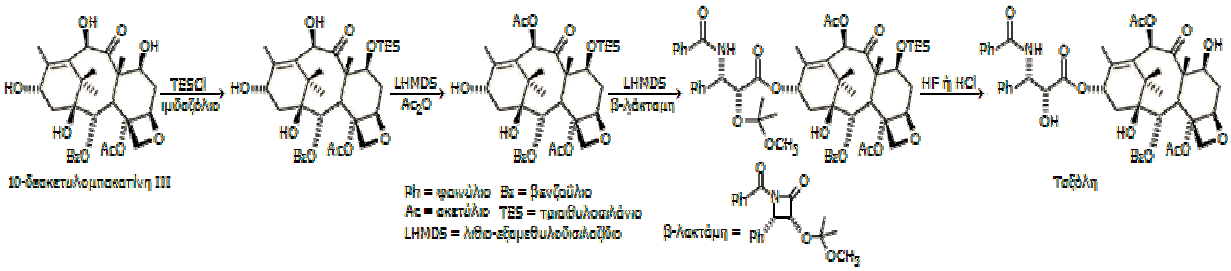
Στις αρχές της δεκαετίας του 1980, μία ομάδα Γάλλων ερευνητών υπό την ηγεσία των Pierre Potier και Andrew Greene ξεκίνησαν να ερευνούν ημισυνθετικές οδούς για την παραγωγή ταξόλης. Η προσέγγιση τους ήταν να προσδιορίσουν προηγμένα «θραύσματα» του πυρήνα της ουσίας σε άλλα δένδρα του ίδιου γένους και να χρησιμοποιήσουν εκείνα, ως σημείο εκκίνησης για συντομευμένα συνθετικά μονοπάτια με στόχο το μόριο της ταξόλης. Ένα τέτοιο σημείο εκκίνησης ταυτοποιήθηκε στο Ευρωπαϊκό *ίταμο*, *Taxus baccata*. Τα φύλλα και τα κλαδιά αυτού του δένδρου, βρέθηκαν να περιέχουν 0,1 % μια ένωσης που ονομάζεται *10-δεακετυλο-μπακατίνη* ή 10-DAB.



Εικόνα 45. *10-δεακετυλο-μπακατίνη III* και το δένδρο από το οποίο εξάγεται, *Taxus baccata*

Η ομάδα του Holton, έχοντας την εμπειρία της ολικής σύνθεσης, παρουσίασε μια σχετικά εύχρηστη ημισυνθετική μέθοδο. Χρησιμοποίησε ως πρώτη ύλη τη φυσική ουσία **10-δεακετυλομπακατίνη** (10-deacetylbaccatin, 10-DAB), η οποία βρίσκεται σε αρκετή ποσότητα στο Ευρωπαϊκό έλατο *Taxus baccata*. Η 10-DAB εμπεριέχει το κύριο ("συνθετικά δύσκολο") τμήμα της δομικής πολυπλοκότητας της ταξόλης (τους 9 ασύμμετρους άνθρακες από τους 11 της ταξόλης).

Το τμήμα των ανθράκων 1', 2' και 3', που συνδέεται με τον άνθρακα 13 του συγκροτήματος των δακτυλίων, συχνά αναφέρεται απλά ως "ουρά" του μορίου. Για το τμήμα αυτό, παρασκευάζεται χωριστά μια β-λακτάμη, γνωστή ως λακτάμη Ojima, η οποία στη συνέχεια συνδέεται με την 10-DAB, αφού προηγουμένως "προστατευθούν" ορισμένες ομάδες της τελευταίας. Η σειρά των αντιδράσεων (δεν περιλαμβάνεται η σύνθεση της β-λακτάμης) είναι η ακόλουθη:



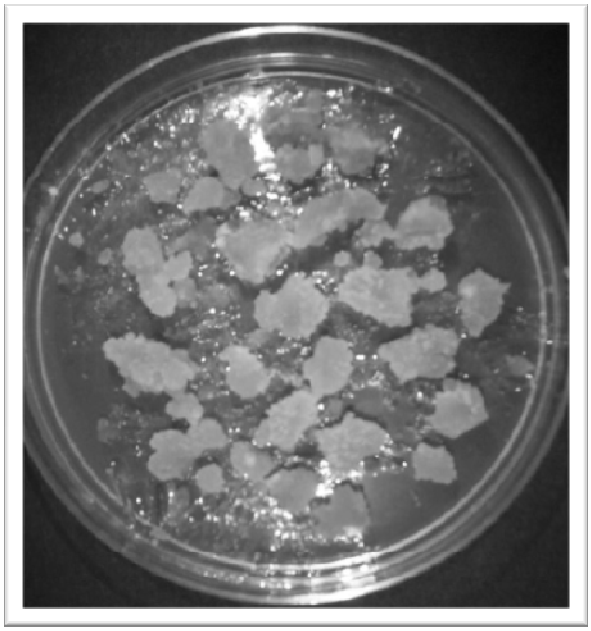
Εικόνα 46. *Ημισύνθεση της ταξόλης από την 10-δεακετυλομπακατίνη*

Οι μοναδικές ιδιότητες της ταξόλης και της μπακατίνης, όμως, δημιούργησαν πολλές απροσδόκητες προκλήσεις πάνω στην συνθετική χημεία. Εκτεταμένες έρευνες χρηματοδοτούμενες από το Εθνικό Ινστιτούτο του Καρκίνου των ΗΠΑ, άνοιξαν τον δρόμο ώστε η μετατροπή της 10-δεακετυλο-μπακατίνης ΙΙΙ σε ταξόλη να αποτελέσει υψηλή προτεραιότητα σε πολλά εργαστήρια συνθετικής οργανικής χημείας. Ωστόσο, το 1988 η κυβέρνηση των Ηνωμένων Πολιτειών δεν μπορούσε να δικαιολογήσει τα πολυδάπανα κόστη της ανάπτυξης του Taxol ®. Ήδη η φαρμακευτική εταιρία (Bristol-Myers Squibb) η οποία είχε αναθέσει εξ αρχής τις έρευνες σε μελετητές, είχε ξοδέψει πάνω από 25 εκατομμύρια δολάρια μέχρι εκείνο το σημείο : στα τέλη του Δεκέμβρη του 1988 χορηγήθηκε στην εταιρία μια σύμβαση συνεργατικής έρευνας και ανάπτυξης, βασιζόμενη στην λεπτομερή πρόταση για επίλυση του θέματος των προμηθειών. Η σύμπραξη αυτή κινητοποίησε τις κλινικές δοκιμές και το δίκτυο διανομής που η εταιρία είχε δημιουργήσει. Επιπλέον, η συλλογή των φύλλων και των κλαδιών από τα δένδρα *Taxus baccata* κατέστη δυνατή μέσω της καλλιέργειας του δένδρου σε ολόκληρη την Ευρώπη.

Η παραγωγή ταξόλης από ζύμωση φυτικών κυττάρων

Με την επιτυχημένη ανάπτυξη και εμπορική αναπαραγωγή της ημισυνθετικής ταξόλης, η καταστροφή των δασών του Ειρηνικού σταμάτησε. Ωστόσο, αυτή η επιτυχημένη μετάβαση από μία, κατά βάση, μη-ανανεώσιμη πηγή (την εξαγωγή φλοιού από τον *ίταμο* του Ειρηνικού) σε μια ανανεώσιμη (συγκομιδή των φύλλων και των κλαδιών από τα Ευρωπαϊκά δένδρα για την απόκτηση μπακατίνης, ακολουθούμενη από την συνθετική μετατροπή της σε ταξόλη) εξακολουθούσε να παρουσιάζει σημαντικές περιβαλλοντικές προκλήσεις. *Η χρήση δεκατριών διαφορετικών διαλυτών, εκ των οποίων μερικοί ήταν επικίνδυνοι, και δεκατριών διαφορετικών οργανικών αντιδραστηρίων , πολλά από τα οποία ήταν τοξικά , τα απόβλητα από την όλη διαδικασία και η ενέργεια, αποτέλεσαν εντατικά επεξεργαζόμενα κομμάτια που εν τέλει οδήγησαν την φαρμακευτική εταιρία να ακολουθήσει μια περιβαλλοντικά βιώσιμη λύση για την παραγωγή του φαρμάκου.* Η εφαρμογή της *υδατικής ζύμωσης των φυτικών κυττάρων (PCF)* αποτέλεσε την λύση.

Χρησιμοποιώντας τεχνολογία που παραχωρήθηκε από την Phyton Biotech GmbH, επιστήμονες της εταιρίας ανέπτυξαν μια διεργασία κυτταρικής ζύμωσης χρησιμοποιώντας καλλιεργημένα κύτταρα που πάρθηκαν από βελόνες του κινέζικου *ίταμου*, *Taxus chinensis.* Το παρακάτω σχήμα απεικονίζει μια σειρά από κάλλους *(κάλλος* ονομάζεται η μάζα από αδιαφοροποίητα κύτταρα που συνήθως συντηρούνται σε στερεό υπόστρωμα κατά τον ίδιο τρόπο που καλλιεργούνται τα βακτήρια.

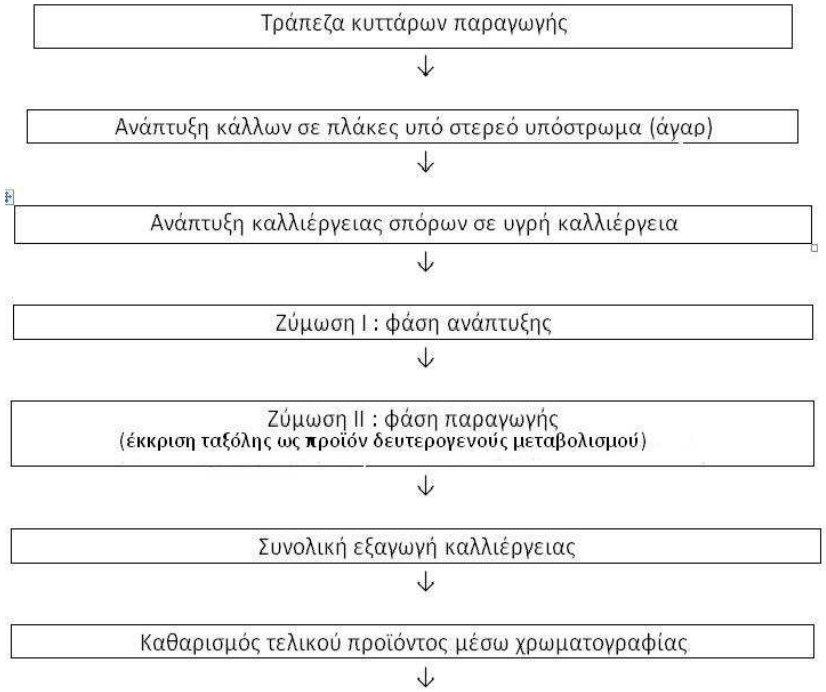


Εικόνα 47. *Κυτταρικοί κάλλοι που προέρχονται από τις βελόνες του Taxus chinensis*[18]

Στο επόμενο διάγραμμα παρουσιάζονται συνοπτικά τα χρονοβόρα στάδια της διεργασίας για την παραγωγή της ταξόλης. Σε αυτή την διαδικασία, περίπου 1 γραμμάριο κυττάρων που περιλαμβάνει το περιεχόμενο ενός κατεψυγμένου φιαλιδίου της τράπεζας κυττάρων παραγωγής, καλλιεργείται σε πλάκα που περιέχει στερεό υπόστρωμα τύπου άγαρ με σκοπό την δημιουργία κάλλων , οι οποίοι στην συνέχεια μεταφέρονται σε υγρό μέσο ανάπτυξης. Ο σπόρος που οικοδομείται στο προαναφερθέν στάδιο ακολουθεί την φάση της ανάπτυξης (ζύμωση Ι) , περίοδο κατά την οποία η μάζα των κυττάρων ανοικοδομείται και στην οποία το νωπό θρεπτικό μέσο αντικαθίσταται εβδομαδιαία. Στην συνέχεια,

ακολουθεί μια φάση παραγωγής (ζύμωση ΙΙ) στην οποία τα κύτταρα τρέφονται με ειδικό μέσο παραγωγής ενώ η ταξόλη παράγεται ως δευτερογενής μεταβολίτης. Το υπόλοιπο μείγμα από την καλλιέργεια, εξάγεται για την ανάκτηση ακατέργαστης ταξόλης και το εκχύλισμα εν συνεχεία, καθαρίζεται περαιτέρω με χρωματογραφία και ανακρυστάλλωση για να αποδώσει την ενεργή φαρμακευτική ένωση.

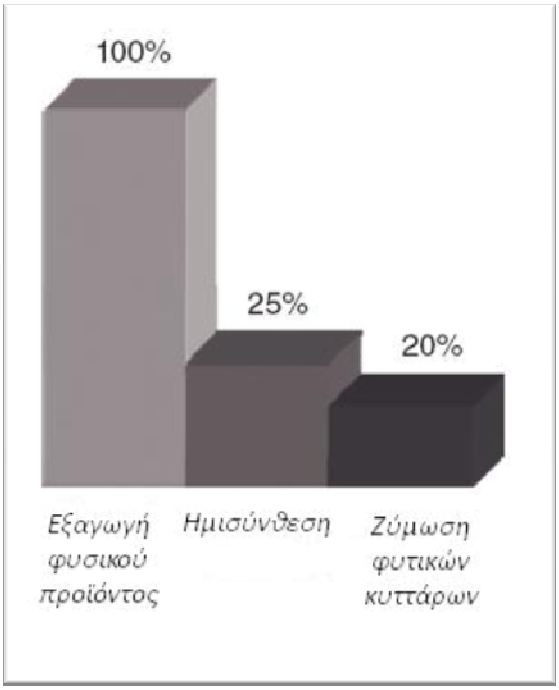
Με βάση την επιτυχία της διεργασίας και την εφαρμογή της σε εμπορική κλίμακα, η εταιρία έλαβε την απόφαση να διακόψει την παραγωγή της ημισυνθετικής ταξόλης και να επικεντρωθεί αποκλειστικά στην ζύμωση των φυτικών κυττάρων.



Εικόνα 48. *Διαδικασία της ζύμωσης φυτικών κυττάρων και της εξαγωγής* ***ταξόλης***[18]

Συμπερασματικά, η εν λόγω φαρμακευτική εταιρία ήταν η πρώτη και η μόνη που χρησιμοποίησε την τεχνολογία της ζύμωσης για την παραγωγή πακλιταξέλης. Η ανάπτυξη αυτής της καινοτόμου τεχνολογίας, αποτελεί μια ουσιώδης επίδειξη του πως η αξία του κόστους υπερβαίνει κατά πολύ, το κόστος παραγωγής. Ενώ θεωρείται στην βιομηχανία οργανικής χημείας, ότι η *Πράσινη Χημεία* είναι

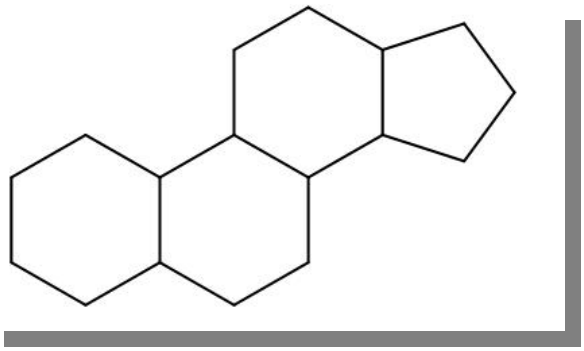
ακριβότερη ή αποσκοπεί στην χαμηλή απόδοση παραγωγής, η ιστορία του Taxol ® αποδεικνύει ότι αυτό δεν είναι δεδομένο. Πράγματι, το κόστος από την σύγκριση αγαθών μεταξύ των διαδικασιών που αναφέρθηκαν, αποδεικνύεται στο παρακάτω διάγραμμα.[18]



Εικόνα 49. *Σύγκριση του κόστους αγαθών με βάση τον τρόπο παραγωγής*[18]

Το στεροειδές, cortistatin A

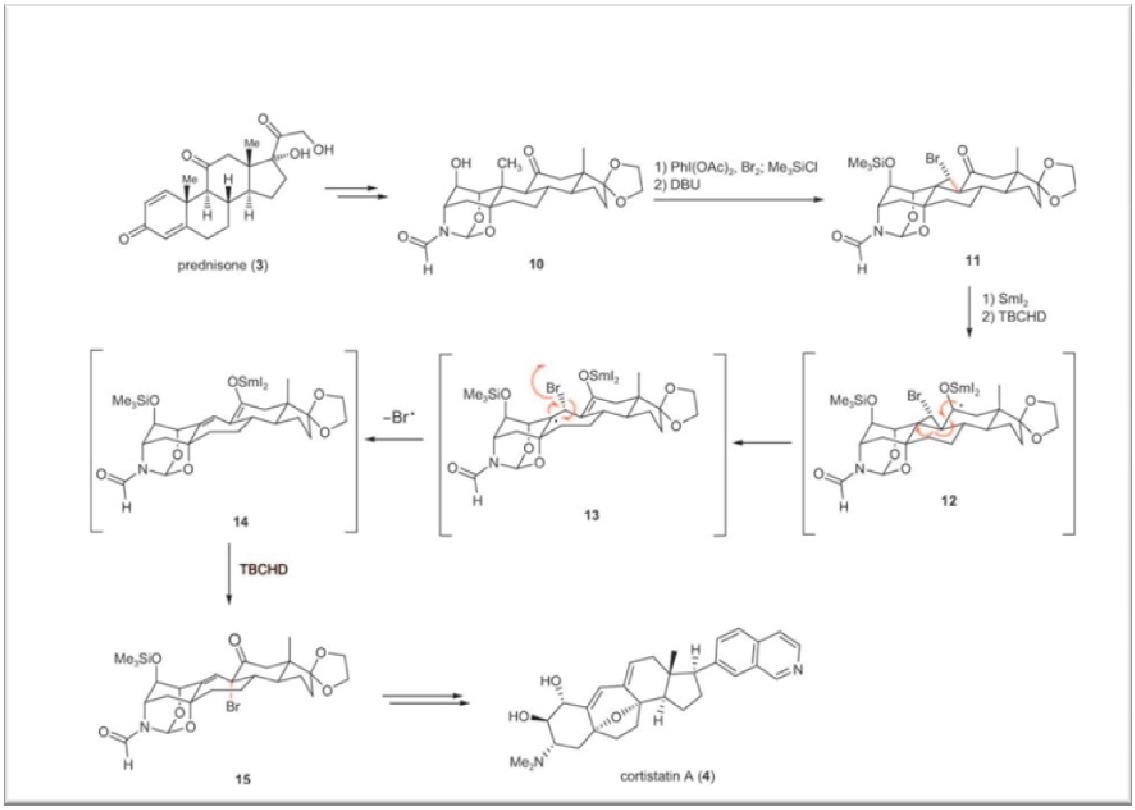
Χάρη στην μοναδική πληθώρα δομών και βιολογικών δραστηριοτήτων, τα φυσικά προϊόντα με δομικό σκελετό στεροειδούς έχουν παίξει έναν σημαντικό ρόλο στην φαρμακευτική χημεία. Σε συνδυασμό με την ανακάλυψη των στεροειδών ως ενεργών ορμονικών ενώσεων , στα μέσα του περασμένου αιώνα, η χημεία των στεροειδών άνθησε. Ακόμη και σήμερα οι περισσότερες από τις ενώσεις αυτής της κατηγορίας που χρησιμοποιούνται σαν φαρμακευτικά σκευάσματα, παράγονται μέσω τροποποίησης των φυσικών προϊόντων μέσω ημισυνθετικών προσεγγίσεων.



Εικόνα 50. *δομικός σκελετός στεροειδών*

Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα *ημισύνθεσης στεροειδούς*, αποτελεί η προσέγγιση του Baran και της ερευνητικής του ομάδας : η σύνθεση αυτή του στεροειδούς ***cortistatin A*** άρχισε με μία τροποποίηση πολλαπλών βημάτων της πρεδνιζόνης, ενός συνθετικού κορτικοστεροειδούς, η οποία και κατέληξε στο χημικό ενδιάμεσο **10**. Στη συνέχεια, η διυδροβρωμίωση με μια α-αλκυλίωση του γειτονικού καρβονυλίου δημιούργησαν ένα τριμελή δακτύλιο (χημικό ενδιάμεσο **11**), ο οποίος διανοίχτηκε και μέσω των ριζών **12** και **13**, προέκυψε ο ζητούμενος επταμελής δακτύλιος. Αυτή η ακολουθία αντιδράσεων περατώθηκε με τη δέσμευση του παραγόμενου ενολικού ιόντος **14**, χρησιμοποιώντας την 2,4,4,6-τετραβρωμο-2,5-κυκλοεξαδιενόνη (TBCHD) ως πηγή βρωμίου. Ακολούθησαν και άλλες αντιδράσεις για την ολοκλήρωση της σύνθεσης του ζητούμενου στεροειδούς, cortistatin A.

Επισημαίνεται το βασικό πλεονέκτημα της παραπάνω ημισύνθεσης το οποίο είναι η μεγάλη αποθεματικότητα του αρχικού υλικού, της πρεδνιζόνης. [24]



Εικόνα 51. *ημισύνθεση του στεροειδούς,* ***cortistatin A*** *με αρχικό υλικό την πρεδνιζόνη*[24]

Κεφάλαιο 6

Υπόλοιπες προσεγγίσεις στον σχεδιασμό και την ανακάλυψη φαρμάκων

Σε πολλά επιστημονικά άρθρα, παρουσιάζεται ως νέα προσέγγιση στον τομέα του σχεδιασμού φαρμάκων η λεγόμενη Συνδυαστική χημεία, ενώ άλλες προσεγγίσεις στον τομέα της συνθετικής οργανικής χημείας αποτελούν οι συνθέσεις που προσανατολίζονται σε συγκεκριμένη δομή, λειτουργία ή χαρακτηριστικό του επιθυμητού μορίου οι οποίες πραγματοποιούνται με πραγματικές αντιδράσεις αλλά σημαντικό ρόλο σε αυτές παίζουν εικονικές βιβλιοθήκες στις οποίες απεικονίζονται δομές ενώσεων.

Η Συνδυαστική χημεία (Combinatorial Chemistry) περιλαμβάνει την ταχεία σύνθεση μιας ευρείας κατηγορίας υλικών ή μορίων που ναι μεν είναι διαφορετικά αλλά δομικά παρουσιάζουν ομοιότητες.

Η σύνθεση των μορίων με ένα συνδυαστικό τρόπο μπορεί γρήγορα να οδηγήσει σε μεγάλο αριθμό μορίων. Για παράδειγμα, ένα μόριο με τρείς διαφορετικούς υποκαταστάτες (R1, R2, και R3) μπορεί να ανακατασκευαστεί σε πιθανές δομές, όπου, N_{R_1} , N_{R_2} και N_{R_3} είναι ο αριθμός των χρησιμοποιουμένων διάφορων υποκατάστατων.

Αν και η συνδυαστική χημεία έγινε δεκτή από τη βιομηχανία από το 1990, ιστορικά οι ρίζες της βρίσκονται στη δεκαετία του 1960 όταν ο ερευνητής στο πανεπιστήμιο Rockefeller, Bruce Merrifield, άρχισε να ερευνά την σύνθεση στερεάς φάσης των πεπτιδίων. Ο καθηγητής Pieczenik, συνάδελφος του νομπελίστα Merrifield, δημιούργησε την πρώτη βιβλιοθήκη συνδυαστικής χημείας.

Στη σύγχρονη μορφή της, η συνδυαστική χημεία ίσως έχει το μεγαλύτερο αντίκτυπο στη φαρμακευτική βιομηχανία. Οι ερευνητές προσπαθούν να βελτιστοποιήσουν τα προφίλ δραστικότητας μιας ένωσης, δημιουργώντας μια «βιβλιοθήκη» πολλών διαφορετικών αλλά συναφών ενώσεων. Οι εξελίξεις στην ρομποτική έχουν οδηγήσει σε μια βιομηχανική προσέγγιση της συνδυαστικής σύνθεσης, που επιτρέπει στις εταιρείες να παράγουν συστηματικά πάνω από 100.000, νέες και μοναδικές, ενώσεις ανά έτος.

Για να χειριστούν το μεγάλο αριθμό των διαρθρωτικών δυνατοτήτων, οι ερευνητές συχνά δημιουργούν μια λεγόμενη «*εικονική βιβλιοθήκη*», που αποτελεί μια υπολογιστική απαρίθμηση όλων των πιθανών δομών ενός δεδομένου

φαρμακοφόρου τμήματος μιας ένωσης με όλα τα διαθέσιμα αντιδραστήρια. Μια τέτοια βιβλιοθήκη μπορεί να αποτελείται από χιλιάδες έως εκατομμύρια «εικονικές» ενώσεις. Ο ερευνητής μπορεί να επιλέξει ένα υποσύνολο της εικονικής βιβλιοθήκης για την πραγματική σύνθεση, με βάση διάφορους υπολογισμούς και κριτήρια.

Τα μισά περίπου από τα φάρμακα που βρίσκονται υπό κλινικές δοκιμές, είναι φυσικά προϊόντα. Παρά το γεγονός αυτό κάθε αυτό, οι φαρμακευτικές εταιρείες έχουν αποδεχτεί την εποχή της συνδυαστικής χημείας, παραμελώντας την ανάπτυξη των φυσικών προϊόντων ως εν δυνάμει υποψήφιων φαρμάκων για χάρη του ελέγχου υψηλής απόδοσης (**h**igh **t**hroughput **s**creening or **HTS**) που έχει σκοπό την δημιουργία μεγάλων «εικονικών βιβλιοθηκών».

Η χημειοθεραπεία για την αντιμετώπιση του καρκίνου, για παράδειγμα, παρουσιάζει μια ιδανική ευκαιρία για την, εμπνευσμένη από τα φυσικά προϊόντα, ανακάλυψη και ανάπτυξη φαρμάκων. Δυστυχώς, πολλές από τις πλέον υποσχόμενες φυσικές ενώσεις κυρίως εκείνες που προέρχονται από θαλάσσιους οργανισμούς όπως τα σφουγγάρια, είναι διαθέσιμες μόνο σε εξαιρετικά μικρές ποσότητες.

Η απροθυμία της φαρμακευτικής βιομηχανίας να επιδιώξει να μετατρέψει τις βιοδραστικές φυσικές ενώσεις σε δυναμικά φάρμακα, έγκειται κυρίως στο πρόβλημα ανεφοδιασμού. Έτσι ως βασική επιλογή για την προμήθεια αυτών των σημαντικών υποψήφιων φαρμάκων σε προκλινικές και κλινικές δοκιμές, αποτελεί η *οργανική σύνθεση* τους. Ωστόσο η ακαδημαϊκή προσέγγιση σε αυτά τα μόρια, συνήθως οδηγεί σε χρονοβόρα συνθετικά μονοπάτια λόγω των συχνά εξαιρετικά περίπλοκων δομών, με μακρά περίοδο ανάπτυξης, χαμηλές συνολικές αποδόσεις και την παροχή ποικίλλων δομικών αναλόγων.

Μια εναλλακτική προσέγγιση για την ανακάλυψη φαρμάκων, την οποία έχει αποδεχτεί και η φαρμακευτική βιομηχανία, αποτελεί η *συνδυαστική χημεία* και η *σύνθεση προσανατολισμένη σε ποικιλία δομών* (diversity-oriented synthesis, DOS). Η μέθοδος αυτή, προσφέρει πρόσβαση σε ένα προεπιλεγμένο εύρος, αρκετά διαφορετικών δομικά, μορίων που διαρθρώνονται γύρω από έναν κοινό πυρήνα, παρέχοντας έτσι μεγάλες «εικονικές βιβλιοθήκες» ενώσεων σε σύντομο χρονικό διάστημα. Αυτές οι βιολογικά υψηλής απόδοσης δραστηριότητες, κατέστησαν

δυνατές χάρη στις προόδους της βιοτεχνολογίας και του αυτοματισμού. Το πρόβλημα με αυτή την μέθοδο, έγκειται στο σχετικά χαμηλό ποσοστό επιτυχίας αυτών των βιβλιοθηκών, που απεικονίζουν ενώσεις σχετικές με τα φυσικά προϊόντα.[17]

Συνδυαστική σύνθεση εμπνευσμένη από τα φυσικά προϊόντα

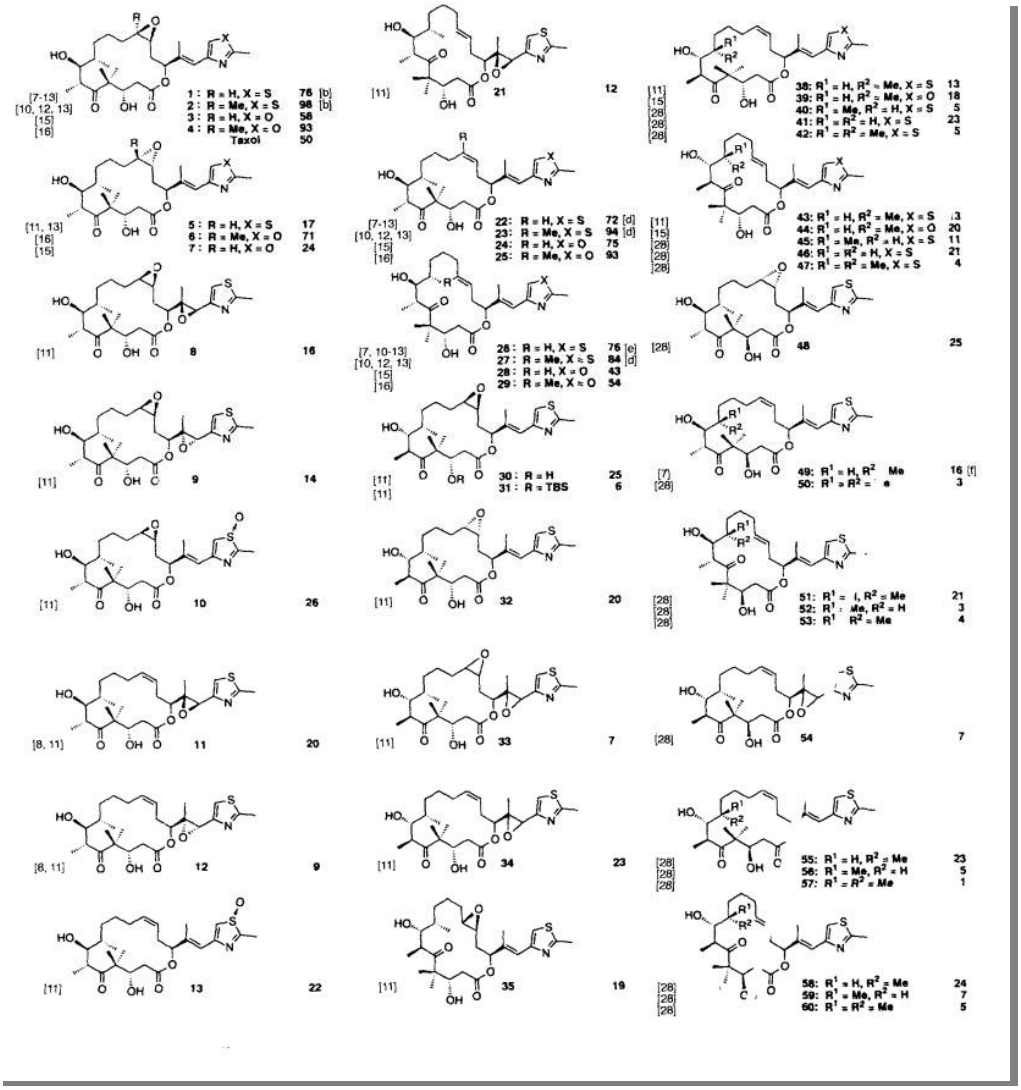
Οι εικονικές βιβλιοθήκες που δημιουργούνται για την συνδυαστική σύνθεση, καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα προσεγγίσεων. Αυτές μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις ομάδες, αν και οι διαφορές μεταξύ αυτών είναι μερικές φορές δυσδιάκριτες.

1. Οι συνθέσεις που βασίζονται στους δομικούς σκελετούς των βιοενεργών φυσικών προϊόντων, οδηγούν σε βιβλιοθήκες παραγώγων δευτερογενών μεταβολιτών τα οποία εμφανίζουν στερεοχημική ποικιλομορφία.
2. Η σύνθεση προσανατολισμένη στη βιολογία (**bi**ology **o**riented **s**ynthesis – **BIOS**), εκμεταλλεύεται τις δομικές πληροφορίες από τα φυσικά προϊόντα και τις πρωτεΐνες-στόχους τους και επικεντρώνεται σε πιο εξειδικευμένα δομικά χαρακτηριστικά για ένα συγκεκριμένο στόχο.
3. Τέλος, η σύνθεση προσανατολισμένη σε ποικιλία δομών (***d**iversity **o**riented **s**ynthesis or **DOS**)* στοχεύει στο να δημιουργήσει μια εικονική βιβλιοθήκη που να περιέχει καινοτόμες συνθετικές ενώσεις, ιδιαίτερης ποικιλίας και οι οποίες να μοιάζουν με τα φυσικά προϊόντα ενώ στα δεδομένα ενσωματώνονται και οι πολύπλοκες τρισδιάστατες δομές: οι βιβλιοθήκες αυτές συνήθως περιέχουν τους δομικούς σκελετούς των ενώσεων αλλά και την στερεοχημική ποικιλομορφία.

*Είναι καλό να τονιστεί, ότι υπάρχει επικάλυψη μεταξύ αυτών των προσεγγίσεων και όπως προαναφέρθηκε δεν διαχωρίζονται πλήρως. Χαρακτηριστικό παράδειγμα επίσης αποτελεί ο συνδυασμός της εκτρεπόμενης ολικής σύνθεσης (**d**iverted **t**otal **s**ynthesis or **DTS**) και της παραδοσιακής φαρμακευτικής χημείας στον σχεδιασμό και την ανάπτυξη φαρμάκων.*

1.Συνδυαστική σύνθεση παραγώγων φυσικών προϊόντων για την δημιουργία βιβλιοθηκών βιοεμπνευσμένων ενώσεων

Οι συνθέσεις στερεής φάσης των εποθηλονών (συνθέσεις που αποτελούν κατηγορία της συνδυαστικής σύνθεσης), χρησιμοποιήθηκαν για να ανιχνεύσουν περιοχές του μορίου που αποτελούν σημαντικής σημασίας για την διατήρηση ή την βελτίωση της δραστικότητας του μορίου ενώ η συνδυαστική σύνθεση των διμερών της βανκομυκίνης απέδωσε ενώσεις με βελτιωμένη δραστικότητα ενάντια σε, ανθεκτικά σε φάρμακα, βακτήρια.



Εικόνα 52 . *τμήμα της εικονικής βιβλιοθήκης που αποτελείται από ανάλογα της εποθιλόνης και που συντέθηκαν από τον καθηγητή Nicolaou και την ομάδα του*[25]

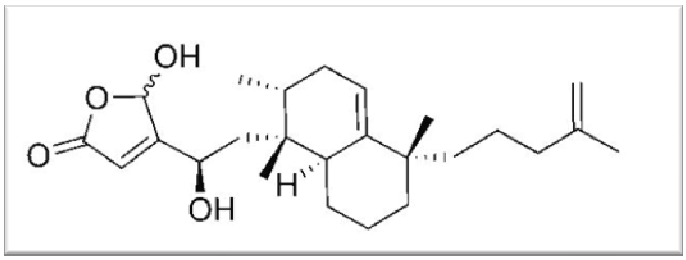
2.Σύνθεση προσανατολισμένη σε βιολογία για την δημιουργία βιβλιοθηκών βιοεμπνευσμένων ενώσεων (BIOS)

Ο Waldmann ανέπτυξε μια νέα έννοια για τον σχεδιασμό συνδυαστικών βιβλιοθηκών που περιέχουν ενώσεις, σχετιζόμενες δομικά με φυσικά προϊόντα, και την ονόμασε BIOS (Biology Oriented Synthesis). Η ιδέα βασίζεται στην αναγνώριση θεμελιωδών αλλά και συμπληρωματικών ιδιοτήτων των φυσικών προϊόντων και των πρωτεϊνικών στόχων.

Η σύνθεση αυτή, βασίζεται σε δύο έννοιες που έχει αναπτύξει η ερευνητική ομάδα του Wadmann :

1. Οι δομικοί σκελετοί μπορούν να χαρτογραφηθούν με έναν ιεραρχικό τρόπο ώστε να δημιουργηθεί ένα «δομικό δέντρο» μία δομική κατάταξη των φυσικών προϊόντων (**s**caffold **c**lassification **o**f **n**atural **p**roducts – ***SCONP***). Μέσω αυτής της λογικής μπορούν να απλουστευθούν δομικά οι σκελετοί των μορίων.
2. Η ομαδοποίηση πρωτεϊνικών δομών που παρουσιάζουν ομοιότητες (**p**rotein **s**tructure **s**imilarity **c**lustering ***PSSC***) δεδομένου ότι οι πρωτεΐνες ομαδοποιούνται σε τρισδιάστατες δομές γύρω από τις θέσεις δέσμευσης του μορίου στο στόχο.

Η επιτυχία αυτής της σύνδεσης αποδείχθηκε από την συνδυαστική βιβλιοθήκη που δημιουργήθηκε, χάρη στο θαλάσσιο φυσικό προϊόν, δυσιδιολίδη. Θεωρώντας ότι η γ-υδροξυ-βουτενολιδική ομάδα της δυσιδιολίδης ήταν ο καθοριστικός παράγοντας για τη δράση του μορίου έναντι του ενζύμου φωσφατάση, παρασκευάστηκε μια βιβλιοθήκη 147 αναλόγων ενώσεων από την οποία προέκυψε ένα μόριο 10 φορές περισσότερο δραστικό από το αρχικό έναντι του γονιδίου Cdc25A.



Εικόνα 53. *μοριακή δομή* ***δυσιδιολίδης***

Η σύνθεση αυτή αντιπροσωπεύει μια βελτιωμένη έκδοση των εικονικών συνδυαστικών βιβλιοθηκών, που απαρτίζονται από δομικούς σκελετούς δευτερογενών μεταβολιτών, καθώς εστιάζει στις πλέον βιολογικά δραστικές, χημικές περιοχές που αλληλεπιδρούν με τον στόχο. Επιπλέον επιτρέπει την «μεταφορά» γνώσης, σχετικά με την διαφοροποίηση του στόχου από ένα φυσικό προϊόν, σε ένα ολόκληρο σύμπλεγμα πρωτεϊνών που σχετίζονται δομικά.

3.Σύνθεση προσανατολισμένη σε ποικιλία δομών για την δημιουργία βιβλιοθηκών βιοεμπνευσμένων ενώσεων (DOS)

Η σύνθεση αυτή βασίζεται στην παραδοχή ότι οι περιοχές του «χημικού σύμπαντος» που δεν ορίζονται από τα φυσικά προϊόντα ή τα γνωστά φάρμακα, μπορεί να είναι «εύφορες» περιοχές για να ανακαλυφθούν καινοτόμα μικρά μόρια, τα οποία διαμορφώνουν τα βιομακρομόρια με διάφορους τρόπους. Οι δύο προηγούμενες προσεγγίσεις, που βασίζονται σε γνωστούς δομικούς σκελετούς φυσικών προϊόντων, στοχεύουν στο να «οικοδομήσουν» μια συγκεκριμένη περιοχή χημικού χώρου η οποία σχετίζεται βιολογικά με έναν καθορισμένο στόχο. Αντίθετα η σύνδεση DOS, έχει ως στόχο να επιτύχει μια κάλυψη χημικού χώρου, διαφοροποιημένη και μη εστιασμένη σε σχέση με την αποτελεσματική σύνθεση βιβλιοθηκών που αποτελούνται από δομικά περίπλοκες και πολύμορφες ενώσεις. Έτσι ενώ τα μόρια μπορούν να χαρακτηριστούν ως όμοιες των φυσικών προϊόντων, συχνά δεν βασίζονται στους δομικούς σκελετούς των φυσικών προϊόντων.

Το πιο εντυπωσιακό παράδειγμα της δυνατότητας που έχει η σύνθεση αυτή να παράγει νέα χημική ποικιλομορφία, είναι η πρόσφατη ανακοίνωση από τον Morton και τους συνεργάτες του, μιας σύνθεσης βιβλιοθήκης που αποτελείται από

96 μέλη-ενώσεις και η δημιουργία της οποίας βασίστηκε σε 84 διαφορετικούς μοριακούς δομικούς σκελετούς. [16]

Τέλος, παρουσιάζεται μια προσανατολισμένη σύνθεση ενώσεων, που σχετίζονται με τα φυσικά προϊόντα όσον αφορά τα λειτουργικά τους χαρακτηριστικά. Σημαντικό πλεονέκτημα αυτής της προσέγγισης, αποτελεί η αναφορά της στον παράγοντα της οικονομίας.

*Σύνθεση προσανατολισμένη στην λειτουργία (**f**unction **o**riented **s**ynthesis or **FOS**)*

Η πρόοδος και η συμβολή των κλάδων της σύνθεσης, της φαρμακευτικής χημείας και της δομικής βιολογίας άνοιξε πρόσφατα ένα ευρύτερο φάσμα ευκαιριών, επιτρέποντας από την μία να στραφεί η ερευνητική προσοχή από την ολική σύνθεση ενός βιοενεργού φυσικού προϊόντος στο υποσύνολο των λειτουργιών, του μορίου, που επηρεάζουν η καθορίζουν την δραστικότητα του.

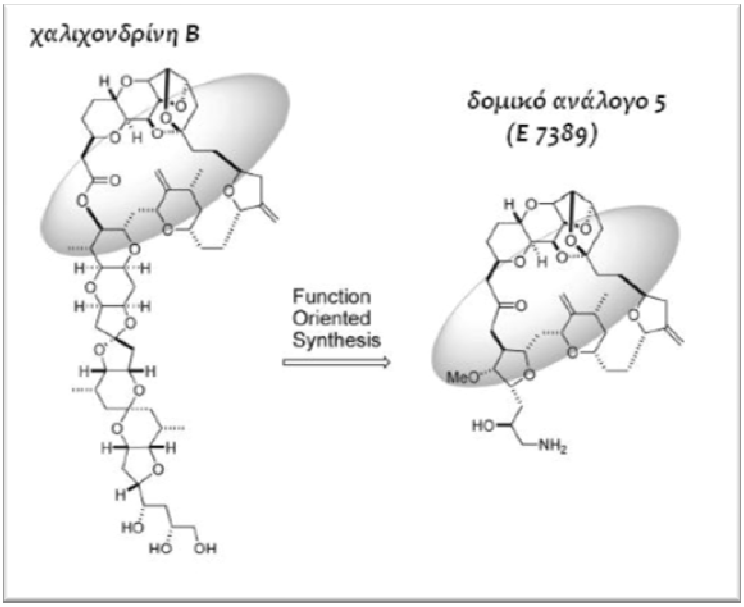
Η κεντρική αρχή αυτής της σύνθεσης είναι ότι, η λειτουργία μιας βιολογικά ενεργής δομής μπορεί να αποτελεί παράδειγμα προς μίμηση ή ακόμη και να βελτιωθεί με αντικατάσταση του δομικού σκελετού με έναν απλούστερο, ο οποίος έχει σχεδιασθεί για να ενσωματώσει τα καθοριστικά διαρθρωτικά χαρακτηριστικά της κύριας ένωσης. Αυτή η προσέγγιση επιτρέπει μια οικονομικότερη, βήμα-βήμα, (step economy) σύνθεση των καινοτόμων δομών οι οποίες θα εμφανίζουν βελτιωμένη δραστικότητα. Επιπλέον, η σύνθεση αυτή έρχεται αντιμέτωπη με ένα συχνό πρόβλημα: πολλά φυσικά προϊόντα είναι πολύ πολύπλοκα για να παρασκευαστούν. Υπάρχουν μόνο δύο τρόποι για να επιλυθεί αυτό το πρόβλημα: είτε να αναπτυχθούν νέες χημικές αντιδράσεις και στρατηγικές σύνθεσης, οι οποίες θα επιτρέψουν συντομότερα «δρομολόγια» προς την δημιουργία του επιθυμητού μορίου, είτε μέσω της σύνθεσης FOS, τον σχεδιασμό λιγότερο πολύπλοκων μορίων που θα διαθέτουν εφάμιλλη ή καλύτερη λειτουργία και το οποίο θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί με έναν καινούργιο συνθετικό τρόπο. Και οι δύο προσεγγίσεις στην καινοτομία της σύνθεσης, καθοδηγούνται από την σημασία της οικονομίας βημάτων δεδομένου ότι αυτή με την σειρά της καθορίζει άλλους παράγοντες όπως

τους διαλύτες και αλλά απόβλητα («οικονομία ατόμων»), τους διαχωρισμούς, τα κόστη, τον χρόνο, την περιβαλλοντική επίπτωση και τις ανάγκες σε προσωπικό (και αναμφισβήτητα την πιο σημαντική οικονομία, την ανθρώπινη οικονομία).

Επιπλέον, η σύνθεση αυτή αντιμετωπίζει διάφορα προβλήματα που σχετίζονται με την ανακάλυψη φαρμάκων. Πρώτον, όπως έχει ήδη αναφερθεί τα φυσικά προϊόντα δεν έχουν δημιουργηθεί για την ανθρώπινη θεραπευτική χρήση και ως εκ τούτου, συχνά η χρήση τους έχει ανεπιθύμητες παρενέργειες. Εστιάζοντας στον στόχο της σύνθεσης αυτής δηλαδή στην επιθυμητή λειτουργία, η προσέγγιση αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ελαχιστοποίηση της δευτερεύουσας δραστικότητας και αντίστοιχα για την ενίσχυση της ευεργετικότερης. Δεύτερον, η προσέγγιση αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την βελτιστοποίηση της διαδικασίας σχηματισμού της ένωσης και της φαρμακοκινητικής επίδοσης, αποφεύγοντας έτσι προβλήματα που παρουσιάζουν πολλά φυσικά προϊόντα (πχ όπως στη σύνθεση της ταξόλης). Τρίτον, λόγω του στόχου της σύνθεσης αυτής που προσανατολίζεται σε καλύτερη λειτουργία των μορίων και όχι σε διαφορετικές δομές, μπορεί να αντιμετωπίσει τον προβληματισμό ότι πολλά φυσικά προϊόντα είναι αρκετά περίπλοκα ώστε να συντεθούν σε πρακτικό επίπεδο, αν και από τις δημοσιευμένες αναφορές των τελευταίων 50 χρόνων διαφαίνεται η πρόοδος πάνω στις ολικές συνθέσεις.

Γενικότερα, αντί να στηρίζεται στην μητέρα φύση να παράγει ενδιαφέρουσες ενώσεις, η σύνθεση αυτή επιτρέπει στον χημικό επιστήμονα και ιδιαίτερα αυτούς που ασχολούνται στην συνθετική οργανική χημεία, να σχεδιάσει ενώσεις με βελτιωμένη λειτουργία και να το πράξει με τρόπο που να επιτρέπει την συνθετική καινοτομία.

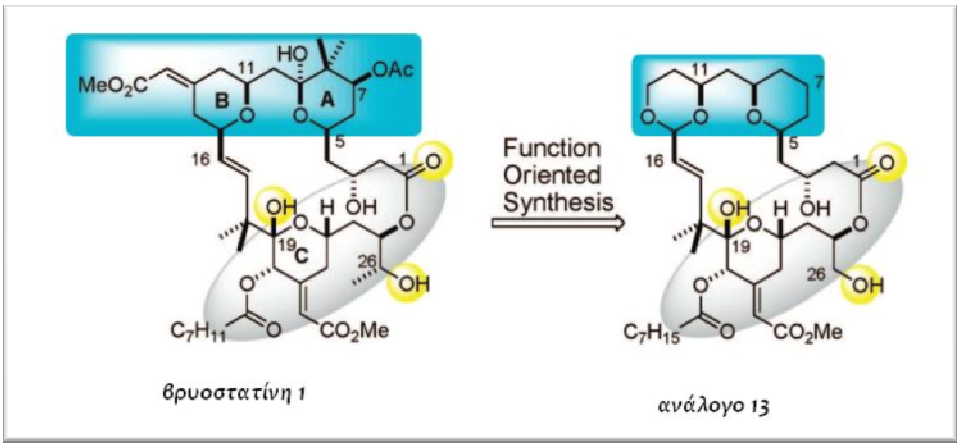
Μελέτες πάνω στην ***χαλιχονδρίνη Β***, ενός δραστικού θαλάσσιου φυσικού προϊόντος, παρείχαν ένα πρόσφατο παράδειγμα της τεράστιας δομικής απλούστευσης και επομένως, της βελτιωμένης οικονομίας που μπορεί να επιτευχθεί χωρίς να «θυσιαστεί» βιολογική λειτουργία. Η ένωση αυτή δεν είναι διαθέσιμη σε επαρκείς ποσότητες ούτε από τις φυσικές πηγές της, λόγω έλλειψης, ούτε μέσω σύνθεσης, λόγω της πολυπλοκότητας της. Ωστόσο, μελέτες έχουν δείξει ότι το απλοποιημένο ανάλογο 5, το οποίο βρίσκεται υπό κλινικές δοκιμές, διαθέτει όλη τη δραστικότητα του αρχικού, δομικά πολυπλοκότερου, φυσικού προϊόντος.



Εικόνα 54. *μέσω της σύνθεσης προσανατολισμένης σε λειτουργία για την χαλιχονδρίνη-Β, προέκυψε το απλοποιημένο ανάλογο Ε 7389*[26]

Τέλος, τα προβλήματα και οι ευκαιρίες που παρουσιάζονται από την βρυοστατίνη είναι ιδανικά για την σύνθεση προσανατολισμένη στην λειτουργία, επειδή η θεραπευτική της δράση συνδέεται μόνο με ένα υποσύνολο της δομής της και έτσι το φαρμακοφόρο κέντρο της θα μπορούσε να σχεδιαστεί σε μια πιο απλοποιημένη δομή, που είναι ευκολότερα προσβάσιμη μέσω σύνθεσης.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η προσέγγιση της σύνθεσης FOS, οδήγησε στην δημιουργία αναλόγων που έχουν συγκρίσιμες ομοιότητες με το μητρικό προϊόν και σε ορισμένες περιπτώσεις είναι ανώτερα από την ίδια την βρυοστατίνη 1. Τα ανάλογα αυτά συντέθηκαν μέσω 29 σταδίων, δηλαδή έγινε μια οικονομία άνω των 40 σταδίων σε σχέση με την συντομότερη σύνθεση βρυοστατίνης. Αυτή η μελέτη αποδεικνύει ένα κεντρικό πλεονέκτημα της σύνθεσης FOS, ότι δηλαδή η ανώτερη λειτουργία μπορεί να επιτευχθεί σε λιγότερα βήματα, με απλούστευση των δομών κα παράλληλα επιτρέποντας μια συνθετική καινοτομία. Με δεδομένη την δραστικότητα της βρυοστατίνης (λιγότερα από 1,2 χιλιόγραμμα απαιτούνται συσσωρευτικά για 8 έως 12 εβδομάδες όσον αφορά την δοσολογία των ασθενών), η σύνθεση αυτή μπορεί να παρέχει επαρκείς ποσότητες για κλινικές μελέτες. [26]



Εικόνα 55. *μέσω της σύνθεσης προσανατολισμένης σε λειτουργία (FOS), παράχθηκαν ανάλογα της βρυοστατίνης 1,εδώ απεικονίζεται το ανάλογο 13, που κατέχουν την ίδια δραστικότητα με το μητρικό προϊόν*[26]

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, ο πλούτος των ενώσεων που ονομάζονται φυσικά προϊόντα ή δευτερογενείς μεταβολίτες συνεχίζει να απασχολεί πολλούς και σημαντικούς τομείς της επιστήμης όπως είναι η οργανική χημεία, η φαρμακευτική και ο σχεδιασμός φαρμάκων. Όσον αφορά την «εξόρυξη» μητρικών ουσιών, το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στο θαλάσσιο περιβάλλον, που δεν έχει εξερευνηθεί πλήρως. Οι προσπάθειες των επιστημόνων να μπορέσουν να συνθέσουν ενώσεις που σχετίζονται με τις φυσικές ενώσεις είναι μεγάλες, καθώς υπάρχει μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον και αρκετές μελέτες που πιστοποιούν ότι οι ενώσεις αυτές μπορούν να συνεισφέρουν σημαντικά στις θεραπείες για το ανθρώπινο γένος. Ωστόσο, τα εμπόδια στην χρήση των ίδιων, μητρικών, ενώσεων στην φαρμακοβιομηχανία είναι πολλά και καλύπτουν πολλούς τομείς. Έτσι, ερευνητές και μελετητές εστιάζονται πια στο πώς αυτές οι ενώσεις μπορούν να εμπνεύσουν τους ίδιους να «δημιουργήσουν» ενώσεις που να μπορούν να παραχθούν βιομηχανικά αλλά και να κατέχουν τα ουσιώδη χαρακτηριστικά των φυσικών προϊόντων. Με την συνεχή εξέλιξη της τεχνολογίας και του αυτοματισμού, η μελέτη πάνω σε αυτή την ομάδα ενώσεων θα συνεχιστεί για πολύ καιρό.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Terence Beghyn, Rebecca Deprez- Poulain, Nicolas Willand, Benoit Folleas and Benoit Deprez, *Chemical Biology and Drug Design*, **2008**, *Volume 72*, *Issue 1*, pages 3-15
2. Guidance for Institutional Review Boards and Clinical Investigators, *Food and Drug Administration*, **16-03-1999**
3. Periapproval Services (Phase IIIb and IV programs), *Covance Inc.*, **2005**
4. Kin S. Lam, *Trends in Microbiology*, **2007**, *Volume 15* , *Issue 6*, pages 279-289
5. Abad-Zapatero C., Metz J.T, *Drug Discovery Today*, **2005**, *Volume 10*, pages 464-469
6. B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, **2000**, *Chapter 24*, pages 1250-1318
7. Alexander N. Glazer, Hiroshi Nikaido, *Microbial Biotechnology: fundamentals of applied microbiology*, **1995**, pages 662
8. Els Van Geldre, Annemieke Vergauwe, Elfride Van den Eeckhout, *Plant Molecular Biology*, **1997**, *Volume 33*, *Number 2,* pages 199-209
9. José Marco-Contelles, Maria do Carmo Carreiras, Carolina Rodriquez, Mercedes Villarroya, Antonio G. Garcia, *Chemical Reviews*, **2006**, *Volume 106, Number 1*, pages 116-133
10. Sianne Schwikkard, Bing-Nan Zhou, Thomas E. Glass, Jessica L. Sharp, Michael R. Mattern, Randall K. Johnson, David G. I. Kingston, *Journal of Natural Products,* **2000**, *Volume 63, Number 4,* pages 457-460
11. Gabriele M.Konig, Stefan Kehraus, Simon F. Seibert, Ahmed Abdel-Lateff, Daniela Muller, *ChemBioChem*, **2006**, *Volume 7*, *Issue 2*, pages 229-238
12. Jing Lei and Jiaju Zhou, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **2002**, *Volume 42, Number 3,* pages 742-748
13. D.S Bhakuni and D.S Rawat, *Bioactive Marine Natural Products*, **2005**, pages 382

14. Young- Won Chin, Marcy J. Balunas, Hee Byung Chai, A. Douglas Kinghorn, *AAPS Journal*, **2006**, *Article 28*
15. Rebecca M. Wilson and Samuel J. Danishefsky, *JOC The Journal of Organic Chemistry*, **2006**, *Volume 71, Number 22*, pages 8329-8351
16. Gordon M. Cragg, Paul G. Grothaus, and David J. Newman, *Chemical Reviews*, **2009**, *Volume 109*, pages 3012-3043
17. Ian Paterson and Edward A. Anderson, Science*,* **2005**, *Volume 310*, pages 451-453
18. Peter J. Dunn, Andrew S. Wells, and Michael T. Williams, *Green Chemistry in the Pharmaceutical Industry*, **2010**, pages 388
19. α)Holton R. A., Somoza C., Kim H. B., Liang F., Biediger R. J., Boatman P.D., Shindo M., Smith C. C., KIM S., *Journal of the American Chemical Society*, **1994**, Volume 116, pages 1597-1598 β) Holton R. A., Somoza C., Kim H. B., Liang F., Biediger R. J., Boatman P.D., Shindo M., Smith C. C., KIM S., *Journal of the American Chemical Society*, **1994**, Volume 116, pages 1599-1600
20. α)Nicolaou K. C., Yang Z., Liu J. J.,Ueno H., Nantermet P. G., Guy R. K., Claiborne C. F., Renaud J., Couladouros E. A., Paulvannan K., Sorensen E. J., *Nature*, **1994**, *Volume 367*, pages 630-634 β)Nicolaou K.C., Nantermet H., Ueno R., Guy R. K., *Journal of the American Chemical Society*, Chem Commun, **1994**, *Volume* 3, pages 295-296 γ)Nicolaou K. C., Nantermet P. G., Ueno H., Guy R. K., Couladouros E.A., Sorensen E. J., *Journal of the American Chemical Society*, Chem Commun, **1995**, *Volume* 117, pages 624-633
21. Danishefsky S. J., Masters J. J., Young W. B., Link J. T., Snyder L. B., Magee T. V., Jung D. K., Isaacs R. C. A., Bornmann W. B., Alaimo C. A., Coburn C. A., Di Grandi M.J, *Journal of the American Chemical Society*, **1996,** *Volume 118*, *Issue 12*, pages 2843-2859,
22. Gary E. Keck, Yam B. Poudel, Thomas J. Cummins, Arnab Rudra, and Jonathan A.Covel, *Journal of the American Chemical Society*, **2011**, *Volume 133*, *Issue 4*, pages 744-747

23. Paul A. Wender, Benjamin L. Miller, *Nature*, **2009**, *Volume 460*, pages 197-201
24. Carl F. Nising Dr., Stefan Prof. Dr., *Angewandte Chemie International Edition*, **2008**, *Volume 47, Issue 49,* pages 9389-9391
25. Nicolaou K. C., Dionisios Vourloumis, Tianhu Li, Joaquin Pastor, Nicolas Winssinger, Yun He, Sasha Ninkovic, Francisco Sarabia, Hans Vallberg, Frank Roschangar, N. Paul King, M. Ray V. Finlay, Pareskevi Giannakakou, Pascal Verdier-Pinard, Ernest Hamel, *Angewandte Chemie International Edition in English,* **1997**, *Volume 36, Issue 19,*pages 2097-2013