KOSMOS
PROBLEMY NAUK BIOLOGICZNYCH

Tom 70 2021
Numer 4 (333)
Strony 637–649

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika

KATARZYNA SZAFRAŃSKA, MONIKA MARCINKOWSKA*, NIKOLA FAJKIS-ZAJĄCZKOWSKA, MARCIN KOŁACZKOWSKI

Katedra Chemii Farmaceutycznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie
Medyczna 9, 30-688 Kraków
E-mail: monika.marcinkowska@uj.edu.pl

„Każde odkrycie potrzebuje szczęścia, pomysłu oraz intelektu. Żadne z nich nie jest wystarczające bez pozostałych dwóch"
Johann Wolfgang Goethe.

PRZEŁOMOWE ODKRYCIA W HISTORII FARMACJI – DZIEŁEM PRZYPADKU*

WSTĘP

Słowa Goethego odzwierciedlają rzeczywistość widoczną w pracy badawczej każdego naukowca. Szczęście jest w istocie jednym z ważnych czynników, dzięki którym nauka i technika wciąż się rozwijają. Wiele odkryć nie miałoby miejsca, gdyby nie przypadek. To samo dotyczy przełomowych momentów w historii farmacji. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie historii kilku przypadkowych odkryć leków: penicyliny, paracetamolu, chlordiazepoksydu, stosowanej przeciwnowotworowo *cis*-platyny oraz działającej przeciwzakrzepowo warfaryny.

MIT FLEMINGA

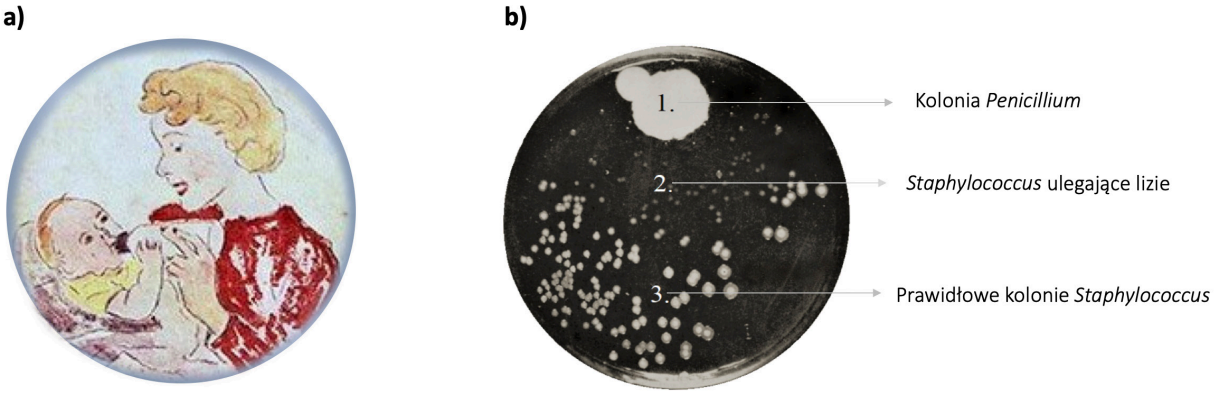
W pierwszej połowie XX w. co piąty zgon spowodowany był zakażeniami bakteryjnymi (głównie pałeczką zapalenia płuc i prątkami gruźlicy). W 1930 r. w Stanach Zjednoczonych z powodu infekcji bakteryjnych zmarło ok. 300 000 osób. Dwadzieścia dwa lata później liczba ta spadła do ok. 95 000, a w 1960 r. – do 90 000 (GOTTFRIED 2005). Spadek ten w dużej mierze był związany z odkryciem w 1928 r. penicyliny, wokół którego narosło wiele mitów.

Wprowadzenie penicyliny na rynek (niestety dopiero wiele lat po jej odkryciu) było przełomowym momentem dla lecznictwa. Zakażenia bakteryjne przestały być jedną z najczęstszych przyczyn zgonów, a zapalenie płuc nie było już kojarzone z wyrokiem śmierci. Z kolei rewolucję seksualną z lat 50. i 60. można łączyć nie tylko z tabletkami antykoncepcyjnymi, ale także z penicyliną, która stała się standardowym lekiem na kiłę (FRANCIS 2013).

Za oficjalnego odkrywcę penicyliny uchodzi Sir Alexander Fleming (1881-1955), który swoje obserwacje na temat substancji produkowanej przez pleśń opublikował w 1929 r. (FLEMING 1929). Nie był on jednak pierwszą osobą, która zaobserwowała antagonizm między niektórymi gatunkami pleśni a bakteriami. Trzydzieści dwa lata przed publikacją Fleminga, młody francuski lekarz, Ernest Duchesne, w swojej rozprawie doktorskiej stwierdził, że „niektóre gatunki pleśni (*Penicillium glaucum*), wstrzyknięte zwierzęciu inokulowanemu patogennymi mikroorganizmami (*Escherichia coli* lub *Bacillum typhosus d'Eberth*), wykazują zdolność do atenuacji tych kultur bakteryjnych (...), co może znaleźć zastosowanie zarówno w celach profilaktycznych jak i terapeutycznych"

Słowa kluczowe: acetanilid, *cis*-platyna, chlordiazepoksyd, diazepam, dikumarol, penicylina, paracetamol, warfaryna

*Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu Narodowego Centrum Nauki – grant nr 2018/30/E/NZ7/00247 oraz Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego N42/DBS/000186.

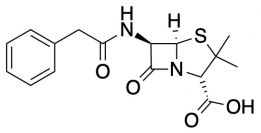


Ryc. 1. a) „Agar art." autorstwa Alexandra Fleminga (zbiory muzealne Alexander Fleming Laboratory Museum), b) Szalka Petriego przedstawiająca rozmieszczenie kolonii Staphylococcus aureus w obecności strzępek Penicillium notatum (FLEMING 1929).

oraz „w antagonizmie, jaki wykazano między pałeczkami ropy błękitnej a laseczkami wąglika, toksyny produkowane przez pierwszy z gatunków zabijają drugi, tak samo może być w przypadku pleśni i bakterii" (DUCHESNE 1897). Publikacja jednak nie zwróciła niczyjej uwagi, a sam Duchesne w 1912 r. zmarł na gruźlicę. Podobne spostrzeżenia opisał Vincenzo Tiberio w 1895 r. (BUCCI i GALLI 2011), a jedenaście lat wcześniej John Tyndall (znany głównie z badań nad fizycznymi właściwościami powietrza i diamagnetyzmem) zauważył, że w obecności *Penicillium glaucum* bakterie opadają na dno probówki, nie wykazując znaków życia (TYNDALL 1884). Fakt, iż współtwórcy późniejszego sukcesu penicyliny, Howard Florey (1898-1968) i Ernst Chain (1906-1979), natrafili właśnie na publikację Fleminga, można więc nazwać dziełem przypadku.

Sir Alexander Fleming był bakteriologiem pracującym w Szpitalu św. Marii w Londynie. W przeciwieństwie do współpracowników, którzy czyścili szalki Petriego zaraz po zakończonych eksperymentach, Fleming miał w zwyczaju odkładać niepotrzebne szalki z koloniami bakteryjnymi na stół laboratoryjny, tworząc z nich stosy liczące nawet do 50 sztuk. Dopiero, gdy na stole kończyło się miejsce, Fleming wszystkie szalki ponownie oglądał, mył i sterylizował. Popularnym jest stwierdzenie, że odkrycie Fleminga wynika z jego braku zamiłowania do porządku (ALLISON 1974), w rzeczywistości jednak był on pasjonatem tzw. „agar art" (Ryc. 1a), czyli obrazków tworzonych na szalkach Petriego przez barwne kolonie bakteryjne (BENTLEY 2005). Odkładanie szalek nie wynikało więc z bałaganiarstwa, a raczej z chęci sprawdzenia zmian, które po czasie zaszły we wzorach stworzonych przez bakterie (MEYERS 2007).

Pod koniec lipca 1928 r. Fleming udał się na miesięczny urlop, nie porządkując laboratorium. Po powrocie do szpitala, 3 września 1928 r., podczas przeglądu zostawionych na ten czas szalek, zauważył na jednej z nich strzępki pleśni oraz żółtawe zabarwienie agaru (FLEMING 1929). Sytuacja ta nie należałaby do niezwykłych, gdyż zanieczyszczenia kolonii bakteryjnych zdarzały się w laboratoriach, jednakże Fleming zaobserwował, że w promieniu ok. 2 centymetrów od strzępek grzyba nie znajdowała się żadna prawidłowa kolonia bakteryjna (Ryc. 1b). Fleming zauważył, iż szalki zostały zanieczyszczone stosunkowo rzadkim gatunkiem pleśni pędzlaka *Penicillium notatum* (THOM 1945), a żółte zabarwienie, które pokrywało powierzchnię szalki, było wynikiem produkowanych przez pleśń substancji, nazwanych później penicyliną i chrysogeniną (BENNETT i CHUNG 2001). Fleming, który na początku lat 20. odkrył lizozym (substancję antybakteryjną występującą m. in. we łzach czy w białku jaja) (ALLISON i FLEMING 1922) założył, że pleśń musi wytwarzać produkt o właściwościach zbliżonych do lizozymu. Wykonał próby z innymi gatunkami pleśni, jednak rozwój bakterii hamował jedynie *Penicillium notatum* (HENDERSON 1997), co potwierdziły również późniejsze badania Rogera Reida (REID 1934). Substancja produkowana przez pleśń – penicylina G (Ryc. 2), wykazywała wyższą aktywność przeciwbakteryjną w porównaniu z lizozymem (FLEMING 1929).



Ryc. 2. Wzór strukturalny penicyliny G.

Penicillium notatum jest niezwykle rzadkim gatunkiem pleśni. Najprawdopodobniej zarodniki tego grzyba dostały się do laboratorium Fleminga z laboratorium mykologicznego znajdującego się na niższym piętrze szpitala (MEYERS 2007). Szczęśliwy zbieg okoliczności pozwolił również na rozwój pleśni, ponieważ, aby *Penicillium notatum* mogło rozwinąć się dostatecznie powstrzymując wzrost *Staphylococcus aureus*, zarodniki musiały znaleźć się na szalce w tym samym czasie, kiedy Fleming rozpoczął hodowlę bakteryjną. Istotnym czynnikiem była również niższa temperatura (ok. 20°C) przez minimum 5 dni, co utrudniło wzrost bakterii, faworyzując wzrost grzyba. Zapisy meteorologiczne temperatur w Londynie wykazały, że lato 1928 r. było niezwykle upalne, z wyjątkiem 9 chłodniejszych dni – dokładnie w czasie rozpoczęcia hodowli przez Fleminga (HARE 1982).

Wcześniejsze doświadczenia Fleminga z substancjami antyseptycznymi wykazały, iż bezpośrednie podawanie ich dożylnie może być niebezpieczne dla pacjenta, ponieważ nie działają one selektywnie, powodując lizę wszystkich komórek, w tym leukocytów – komórek układu odpornościowego. Jednak podczas doświadczeń przeprowadzanych na izolowanej krwi ludzkiej Fleming zauważył, że penicylina hamowała wzrost bakterii *Staphylococcus aureus*, nie uszkadzając przy tym leukocytów (FLEMING 1945). Wynik tego eksperymentu jest związany z mechanizmem działania penicyliny G, która selektywnie uszkadza ściany komórkowe bakterii Gram-dodatnich (BORNSTEIN 1939). Penicylina, należąca do grupy antybiotyków *β*-laktamowych, wykazuje powinowactwo do bakteryjnej transpeptydazy. Enzym ten odpowiada za proces sieciowania podjednostek mureiny (która stanowi ok. 50% ściany komórkowej): transpeptydaza, poprzez łańcuch pentaglicynowy wytwarza poprzeczne połączenia między podjednostkami peptydoglikanowymi (zbudowanymi z *N*-acetyloglukozaminy i kwasu *N*-acetylomuraminowego) (STEINHILBER i współaut. 2012). Inhibicja enzymu przez penicylinę uniemożliwia wytworzenie prawidłowej struktury ściany komórkowej i prowadzi do śmierci bakterii (IZAKI i współaut. 1966). Komórki zwierzęce nie posiadają ścian komórkowych, więc penicylina na nie działa. Dalsze badania nad penicyliną wykazały jednak, że jej izolacja w stabilnej formie, a tym samym produkcja do celów terapeutycznych jest niemal niemożliwa – dlatego uznano ją za związek nieobiecujący klinicznie (CLUTTERBUCK i współaut. 1932, MEYERS 2007, BENTLEY 2009). Jej zastosowanie przez kolejne kilkanaście lat ograniczało się do przygotowywania pożywki różnicującej, ograniczającej wzrost bakterii Gram-dodatnich (LIGON 2004).

Pod koniec lat 30., Howard Florey z Uniwersytetu Oksfordzkiego zaproponował swojemu współpracownikowi, Ernstowi Chainowi, zajmującemu się m. in. strukturą ścian komórkowych, zbadanie mechanizmu litycznego działania lizozymu na komórki bakterii. Zainteresowanie pierwszym z odkryć Fleminga doprowadziło tych naukowców również do jego publikacji o penicylinie, a w następnej kolejności – do rozpoczęcia prób otrzymania kryształów stabilnej formy penicyliny. Próby te jednak nie miały na celu produkcji penicyliny z myślą o praktycznym wykorzystaniu, miały być jedynie „interesującym doświadczeniem naukowym" (MEYERS 2007). Gdyby nie to „doświadczenie", odkrycie Fleminga najprawdopodobniej zostałoby zapomniane. Chain i Florey uzyskali brązowy proszek rozpuszczalny w wodzie, który cechował się niską toksycznością podczas pierwszych prób na myszach, szczurach i kotach. Spośród 25 zwierząt zarażonych *Staphylococcus aureus*, którym podawano penicylinę, przeżyło 21, podczas gdy w grupie kontrolnej wszystkie 25 zwierząt zginęło (CHAIN i wpółaut. 1940). Wyniki prób były zaskakujące, zważając na niską czystość penicyliny podawanej zwierzętom (MEYERS 2007). Wkrótce Florey i Chain skupili się na optymalizacji metody otrzymywania penicyliny. Stwierdzili m. in., że *Penicilium notatum* jest obligatoryjnym aerobem produkującym penicylinę, najlepsze warunki wzrostowe wykazuje w 24°C, a także zaprojektowali ceramiczne naczynie przeznaczone do jej produkcji na większą skalę (ABRAHAM i współaut. 1941).

Mimo obiecujących wyników, z *Penicillium notatum* możliwe było pozyskanie jedynie niewielkich ilości penicyliny. Jednocześnie Florey i Chain nie uzyskali dostatecznych funduszy na dalsze badania, co wynikało z braku zasobów finansowych Wielkiej Brytanii, która była wówczas zaangażowana w działania wojenne. Dlatego Florey, wspólnie ze współpracownikiem, Heatleyem, w czerwcu 1941 r. wyjechał do Stanów Zjednoczonych w celu pozyskania środków finansowych oraz rozpoczęcia poszukiwań bardziej wydajnego gatunku pleśni. Jak podaje Ernst Bäumler, amerykańskie lotnictwo otrzymało wówczas polecenie zwożenia próbek ziemi (potencjalnie zawierającej grzyby) z całego świata (BÄUMLER 1995). Jednak to nie lotnicy przyczynili się do kolejnego odkrycia w historii penicyliny, lecz enigmatyczna postać określana mianem „Marysi Pleśniarki" (ang. Mouldy Mary). Kolonie *Penicillium chryzogenum* rosły na pozostawionej w laboratorium przez "Pleśniarkę" kantalupie (rodzaj melona

cukrowego) i produkowały ponad 200-krotnie więcej penicyliny niż znane wcześniej *Penicillium notatum*. Wokół odkrywczyni pleśni na owocu krążą legendy. Jedna z nich podaje, że była nią Mary K. Steven (z domu Hunt) - pracownica laboratorium, podczas gdy druga mówi o gospodyni domowej czy też handlarce z targu, która miałaby podrzucić owoc do pracowni. Mimo nieścisłości i popularnego przekonania, że Mary Steven jedynie dostarczała penicylinę aliantom, istnieją dowody potwierdzające odkrycie przez nią *Penicillium chryzogenum* z melona (FARRIS 2019). Ze względu na znacznie wyższą wydajność w stosunku do *Penicillium notatum*, polepszoną jeszcze późniejszymi mutacjami komórek grzybowych (wywołanymi poprzez naświetlanie komórek grzybowych promieniowaniem X), obecnie źródłem penicyliny jest właśnie *Penicillium chryzogenum* (BARREIRO i współaut. 2012).

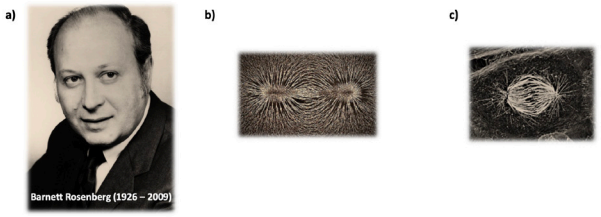
Dalsze starania Florey'a w Stanach Zjednoczonych doprowadziły do współpracy z Northern Regional Research Laboratory of the Department of Agriculture w Peorii, Illinois, gdzie przygotowano pożywkę (syrop ze sfermentowanej skrobi kukurydzianej), która umożliwiła hodowlę *Penicillium chryzogenum* na masową skalę w fabrykach. Dzięki temu, już w 1943 r. produkcja penicyliny pozwoliła na zaspokojenie potrzeb wojsk aliantów (GAYNES 2017).

Odkrycie i badania nad penicyliną zapewniły Flemingowi, Floreyowi i Chainowi Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny w 1945 r. oraz tytuły szlacheckie, jednak przede wszystkim ich prace badawcze zapoczątkowały nową erę antybiotykoterapii i uratowały życie wielu osób.

ODKRYCIE NA WAGĘ PLATYNY

Poszukiwanie nowych sposobów walki z chorobami nowotworowymi, które są jedną z najczęstszych przyczyn zgonów (SIEGEL i współaut. 2020), stało się wielkim wyzwaniem współczesnej nauki. Przełomem w tej dziedzinie było odkrycie właściwości przeciwnowotworowych *cis*-platyny podczas eksperymentu, w którym weryfikowano skuteczność impulsu elektrycznego w hamowaniu rozwoju bakterii.

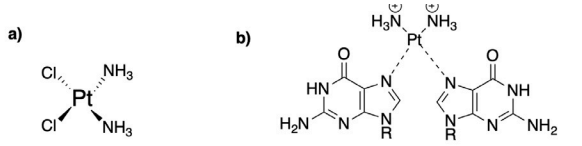
Biofizyk Barnett Rosenberg (1926-2009) (Ryc. 3a) pracujący na Uniwersytecie w Michigan, w latach 60. badał wpływ prądu elektrycznego na bakterie. Zauważył podobieństwo kształtu wrzeciona kariokinetycznego do sposobu ułożenia opiłków żelaza w polu magnetycznym (Ryc. 3b, c.) Założył więc, że pole elektromagnetyczne może wpływać na wzrost i podział *Escherichia coli*. W tym celu, pomiędzy dwoma elektrodami platynowymi umieścił hodowlę *E. coli* w pożywce buforowej i włączył prąd. Efektem doświadczenia było zahamowanie podziału komórek. Zaobserwował także, że kształt bakterii ulega zmianie - pręciki przybrały kształt 300 razy dłuższych włókien (PETSKO 2001). W dalszych pracach badawczych zauważył, że za hamowanie podziału komórek nie odpowiada bezpośrednio prąd elektryczny, lecz uwalniane pod jego wpływem w procesie elektrolizy kompleksy platyny(II).



Ryc. 3. a) Barnett Rosenberg, b) ułożenie opiłków żelaza w polu magnetycznym, c) wrzeciono podziałowe w podziale mitotycznym.

Wyniki te skłoniły Rosenberga do przetestowania różnorodnych związków kompleksowych platyny w kierunku aktywności przeciwnowotworowej na komórkach mięsaka (ROSENBERG 1971, ROSENBERG i współaut. 1965, 1969). Największą aktywność przeciwnowotworową zaobserwowano dla *cis*-platyny (Ryc. 4a), którą ostatecznie zatwierdzono do terapii przeciwnowotworowej. Do dziś *cis*-platyna znajduje zastosowanie w terapii około 70-80% typów nowotworów (KOZAKIEWICZ i KACZMARCZYK 2011).

Cis-platyna jest lekiem cytostatycznym, hamującym podział komórki i powodującym skierowanie jej na szlak apoptozy. Cząsteczka *cis*-platyny jest czynnikiem alkilującym DNA, tworzącym wiązania krzyżowe z sąsiadującymi resztami guaniny. Wiązania krzyżowe mogą zostać utworzone wewnątrzniciowo lub międzyniciowo – powodują one zaburzenie oddziaływań utrzymujących strukturę podwójnej helisy DNA, uniemożliwiając replikację DNA. Komórki najbardziej wrażliwe są na działanie *cis*-platyny w fazie G1 cyklu komórkowego (bezpośrednio przed rozpoczęciem replikacji DNA), mimo że jest ona cytostatykiem fazowo niespecyficznym (KOZAKIEWICZ i KACZMARCZYK 2011). Po wniknięciu do



Ryc. 4. a) Wzór strukturalny *cis*-platyny, b) kompleks *cis*-platyny z guaniną

wnętrza komórki, *cis*-platyna jest przekształcana do $[(Pt(NH_3)_2Cl(OH_2)]^+$ oraz do $[(Pt(NH_3)_2(OH_2)]^+$; dopiero taka forma jest w stanie utworzyć wiązania kowalencyjne z DNA. W ostatnim etapie, platyna wiąże się z kwasem deoksyrybonukleinowym poprzez atom N7 zasady purynowej, uniemożliwiając replikację DNA (Ryc. 4b) (BAIK i współaut. 2003, MONNERET 2011).

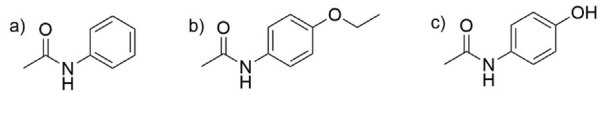
Wśród różnorodnych kompleksów platyny(II), w terapii przeciwnowotworowej znalazły zastosowanie takie pochodne jak: karboplatyna, oksaliplatyna, nedaplatyna czy lobaplatyna. Ze względu na uciążliwe działania niepożądane dla pacjentów w trakcie terapii kompleksami platyny(II), w dalszym ciągu trwają prace badawcze skierowane na poszukiwanie nowych związków o lepszych właściwościach.

TRZY POKOLENIA „TABLETEK OD BÓLU GŁOWY"

Paracetamol jest jednym z najczęściej stosowanych w Europie leków przeciwbólowych (VARASSI i współaut. 2010, WASTESSON i współaut. 2011, POTTEGARD 2018). Wykazuje on działanie przeciwbólowe, przeciwgorączkowe oraz bardzo słabo przeciwzapalne. Ze względu na wysoki profil bezpieczeństwa, w wielu krajach dostępny jest bez recepty (w Stanach Zjednoczonych od 1955 r.) (MEREDITH i GOULDING 1980).

Spośród trzech stosowanych kolejno w lecznictwie analgetyków będących pochodnymi aniliny (acetanilid, fenacetyna i paracetamol (Ryc. 5), do regularnej sprzedaży paracetamol został wprowadzony jako ostatni, zastępując poprzedników, pomimo tego, iż został zsyntetyzowany dużo wcześniej (MORSE 1878).

W 1884 r. w klinice w Strasburgu dwaj młodzi lekarze, Arnolda Cahn (1858-1927) i Paula Hepp, dokonali niezwykłego przypadkowego odkrycia. W 1880 r., podczas leczenia pacjenta zarażonego robakami pasożytniczymi zastosowali zasugerowany przez kierownika kliniki, Adolfa Kussmaula, środek przeciwrobaczy – naftalen. Podana substancja nie wyleczyła pacjenta z robaczycy, ale spowodowała obniżenie gorączki u chorego (BRUNE i HINZ 2004). Lekarze uznali to za niezwykłą obserwację, ponieważ nigdy wcześniej w literaturze medycznej nie pojawił się opis dotyczący właściwości przeciwgorączkowych naftalenu. Poszukując źródła dostawy naftalenu odkryli, iż apteka odpowiedzialna za zaopatrzenie kliniki dostarczyła im przez pomyłkę acetanilid (Ryc. 5a) (CAHN i HEPP 1886). Wkrótce po tym odkryciu acetanilid (Ryc. 5a) wprowadzony został na rynek przez firmę Kalle & Co jako lek przeciwgorączkowy, pod nazwą handlową „Antyfebryna" (KLEBE 2013). Zignorowano wówczas objaw występowania sinicy u niektórych pacjentów, u których był on stosowany (BRUNE i współaut. 2014).



Ryc. 5. Wzory strukturalne: a) acetanilidu; b) fenacetyny; c) paracetamolu.

Pod koniec XIX. W. firma Bayer posiadała około 30 ton *p*-nitrofenolu, odpadu z produkcji barwników. Carl Duisberg (1861-1935) i Otto Hinsberg, zachęceni sukcesem acetanilidu, przeprowadzili redukcję grupy nitrowej *p*-nitrofenolu, uzyskując *p*-aminofenol. Badacze planowali otrzymać różne analogi strukturalne *p*-aminofenolu w nadziei na odkrycie nowego leku przeciwgorączkowego. Zrezygnowali wówczas z syntezy *p*-hydroksyacetanilidu (paracetamolu) (Ryc. 5c) przypuszczając, iż obecność ugrupowania fenolowego nada mu potencjalnie toksyczne właściwości. Postanowili więc zabezpieczyć grupę fenolową ugrupowaniem etylowym, otrzymując w ten sposób *p*-etoksyacetanilid (Ryc. 5b) (DUISBERG 1913). W ten sposób uzyskali fenacetynę (Ryc. 5b), którą wprowadzono na rynek w 1887 r. Badania farmakologiczne i analizy toksykologiczne wykazały, iż fenacetyna wykazuje podobny profil aktywności przeciwgorączkowej do acetanilidu, jednak jest mniej toksyczna (BRUNE 1997). Późniejsze prace badawcze wykazały, iż fenacetyna, chociaż w dużo mniejszym stopniu niż acetanilid, również indukowała sinicę u pacjentów, będącą głównym objawem methemoglobinemii (charakteryzującej się podwyższonym stężeniem we krwi methemoglobiny niezdolnej do wiązania tlenu) (GAULT 1974), co wynikało z utleniania atomów żelaza w cząsteczkach hemoglobiny przez metabolity leku (BRODIE i AXELROD 1948). Pracownicy firmy Bayer, próbując zidentyfikować metabolity odpowiedzialne za methemoglobinemię, dokonali syntezy paracetamolu przypuszczając, że jest on głównym metabolitem fenacetyny. Następnie badania toksykologiczne obu substancji zlecono farmakologowi, Josephowi von Mehringowi. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń von Mehring stwierdził, że paracetamol, podobnie jak acetanilid, może być przyczyną methemoglobinemii (VON MEHRING 1893). Dlatego za najbezpieczniejszą pochodną *p*-aminofenolu uznano fenacetynę, która w tamtych latach zyskała ogromną popularność. Późniejsze dane wykazały jednak, że uzyskane wyniki analizy toksykologicznej paracetamolu pochodziły

od zanieczyszczeń, które powstały w trakcie jego syntezy (BRUNE i współaut. 2014).

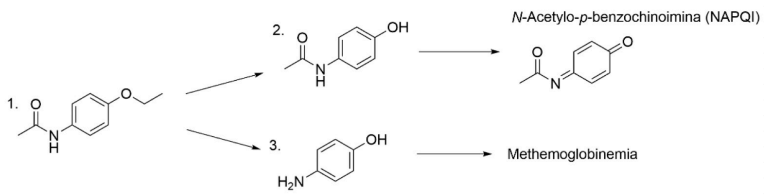
W latach 40. zespół Bernarda Brodiego (1907-1989) i Juliusa Axelroda (1912-2004) dokonał analizy metabolizmu fenacetyny. Wykazano, że aktywnym metabolitem zarówno acetanilidu, jak i fenacetyny był działający przeciwbólowo i przeciwgorączkowo paracetamol (AXELROD 1988). Ostatecznie, analizy toksykologiczne przeprowadzone na oczyszczonym paracetamolu wykazały, iż nie indukuje on methemoglobinemi (BRODIE i AXELROD 1949). Paracetamol uznano za lek bezpieczny, który wprowadzono na rynek w latach 50. Wkrótce po rejestracji zaczął on wypierać fenacetynę z rynku farmaceutycznego, po tym jak w 1957 r. Sven Moeschlin zaobserwował wzrost zachorowań na śródmiąższowe zapalenie nerek i methemoglobinemię u pacjentów, zwłaszcza wśród kobiet w średnim wieku. Wspólnym mianownikiem było nadużywanie przez wszystkie pacjentki tzw. „tabletek od bólu głowy" (w Polsce znanych jako „tabletki z krzyżykiem"), zawierających fenacetynę (MOESCHLIN 1957, BRUNE i współaut. 2014).

Toksyczność fenacetyny spowodowana jest głównie przez jej metabolity: anilinę i *p*-etoksyanilinę. Chociaż fenacetyna 1 (Ryc. 6) w 60% do 80% jest metabolizowana do paracetamolu 2, pozostała część jest m. in. deacetylowana do *p*-etoksyaniliny 3 (BRODIE i AXELROD 1949), będącej prekursorem toksycznych metabolitów prowadzących do utlenienia hemoglobiny do methemoglobiny (HEYMANN i współaut. 1969, PRESCOTT i współaut. 1980). Z powodu toksyczności fenacetynę wycofano z rynku farmaceutycznego, a paracetamol szybko zyskał popularność dzięki swojej aktywności przeciwbólowej i przeciwgorączkowej. W przypadku paracetamolu, obecność grupy hydroksylowej w położeniu *para* powoduje, iż jest on metabolizowany głównie do *N*-acetylo-*para*-benzochinoiminy (NAPQI), która nie indukuje methemoglobinemii (GHANEM i współaut. 2016, ATHERSUCH i współaut. 2018).

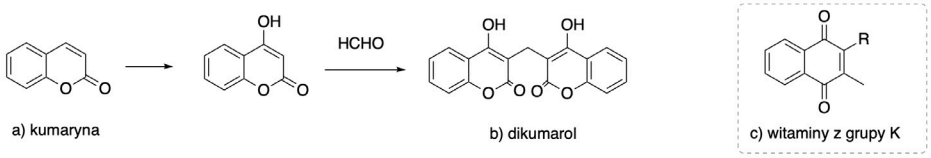
Ze względu na to, że zidentyfikowano kilka różnych mechanizmów działania paracetamolu, do tej pory nie został on jednoznacznie sprecyzowany. Aktualnie przyjmuje się, iż działanie przeciwgorączkowe i przeciwbólowe paracetamolu wynika z blokady peroksydazy (POX), która jest zaangażowana w syntezę prostaglandyn. POX jest jednym z centrów aktywnych enzymu bifunkcyjnego syntazy cyklicznego nadtlenku prostaglandynowego (z ang. prostaglandin H synthase, PGHS). Paracetamol nie posiada aktywności przeciwzapalnej, co wynika z faktu, iż aktywność POX nie może zostać zablokowana w obecności wysokiego stężenia nadtlenków, które jest szczególnie duże w tkankach objętych procesem zapalnym (BERTOLINI i współaut. 2006). Pozostałe mechanizmy, które zidentyfikowano dla paracetamolu, uwzględniają jego deacetylację i koniugację z kwasem arachidonowym, prowadzącą do aktywnego metabolitu *N*-(4-hydroksyfenylo)-arachidonoiloamidu (AM 404). AM404 jest aktywatorem podtypu 1 receptora waniloidowego (TRPV1), odpowiadającego za regulację temperatury ciała – aktywacja TRPV1 powoduje obniżenie temperatury (GAVVA 2008). AM404 jest również inhibitorem błonowego transportera anandamidu (AMT). Blokada transportera zwiększa stężenie anandamidu, będącego endogennym kannabinoidem, w przestrzeni międzybłonowej. Anandamid oddziałuje wówczas z receptorami CB1 układu endokanabinoidowego, co jest odpowiedzialne za efekt przeciwbólowy (BERTOLINI i współaut. 2006).

Jak wspomniano, paracetamol jest metabolizowany głównie do *N*-acetylo-*para*-benzochinoiminy (NAPQI), która w wysokich stężeniach wykazuje działanie hepatotoksyczne. Jeżeli lek jest przyjmowany w dawkach terapeutycznych, NAPQI jest sprzęgany z glutationem (GSH) i usuwany z organizmu. Stosowanie wysokich dawek paracetamolu (ok. 4000 mg) prowadzi do wysycenia aktywności enzymów mikrosomalnych, a w konsekwencji NAPQI zaczyna reagować z ugrupowaniami nukleofilowymi białek, prowadząc do martwicy komórek wątroby (ATHERSUCH i współaut. 2018).

Obecnie paracetamol jest jednym z najczęściej stosowanych leków przeciwbólowych na świecie. Jeśli stosowany jest w dawkach terapeutycznych, uznawany jest za lek bezpieczny i dobrze tolerowany przez pacjentów (BERTOLINI i współaut. 2006).



Ryc. 6. Schemat metabolizmu fenacetyny prowadzącego do methemoglobinemii.



Ryc. 7. Reakcja prowadząca do powstawania: b) dikumarolu z a) kumaryny, c) wzór ogólny witamin z grupy K.

OD EPIDEMII BYDŁA PRZEZ TRUTKĘ NA SZCZURY

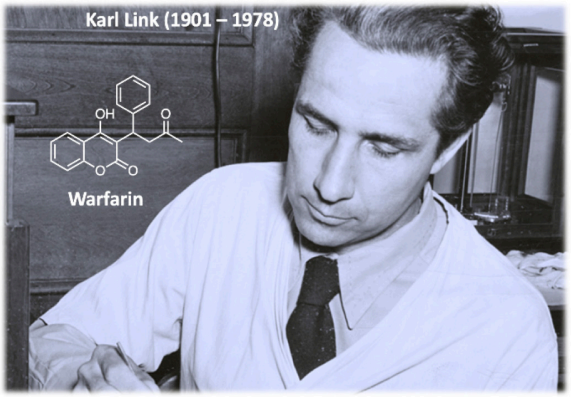
Wśród hodowców bydła od lat panuje przekonanie, iż jedną z najlepszych pasz, bogatą w białko i witaminy, jest sianokiszonka. Dlatego w latach 20. XX w., w celu urozmaicenia paszy dla bydła, amerykańscy farmerzy sprowadzili z Europy nostrzyk – roślinę dobrze wiążącą azot i łatwą w hodowli. Wkrótce potem bydło w północnej Ameryce zaczęło masowo ginąć wskutek choroby krwotocznej.

Weterynarze F. Schofield i L. M. Roderick, poszukując przyczyn masowej śmierci bydła stwierdzili, iż powodem było spożywanie przez zwierzęta spleśniałego siana. Swoją teorię argumentowali faktem, iż lata 20. na północy kontynentu były wyjątkowo wilgotne, co sprzyjało rozwojowi pleśni. Co ciekawe, bydło karmione świeżym sianem nie wykazywało objawów choroby krwotocznej (RODERICK 1931). U zwierząt karmionych spleśniałą paszą zaobserwowano opóźniony czas koagulacji krwi, co prowadziło do wykrwawienia się i śmierci. Roderick stwierdził również obniżony poziom protrombiny u tych osobników, stąd też zasugerował możliwość wyleczenia chorych przez transfuzję krwi i żywienie dobrymi jakościowo paszami. W dalszym ciągu bezpośrednia przyczyna choroby krwotocznej nie była jednak znana.

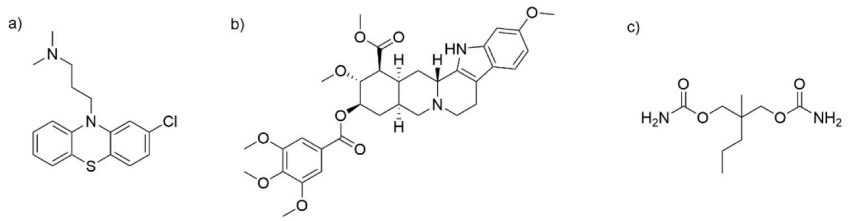
Jeden z farmerów, przygnębiony śmiercią kolejnej ze swoich mlecznych krów, w lutym 1933 r. udał się w niemal 200-milową podróż do Rolniczej Stacji Doświadczalnej Uniwersytetu Wisconsin. Była sobota, trwała zamieć, gabinet weterynaryjny był już nieczynny. Przypadek i desperacja zaprowadziły farmera do jedynego otwartego budynku, w którym mieściło się laboratorium biochemiczne Karla Linka (1901-1978). Miał ze sobą martwą jałówkę, kanister pełen niekrzepnącej krwi i 100 funtów spleśniałej kiszonki, którą karmił zwierzęta (WARDROP i KEELING 2008). Link mógł tylko zasugerować transfuzje krwi chorym zwierzętom i zmianę paszy, na co farmer nie mógł sobie pozwolić finansowo (LAST 2002). Zarówno Link, jak i jego współpracownik Schoeffel byli tak wstrząśnięci zaistniałą sytuacją i własną bezradnością, iż natychmiast po opuszczeniu laboratorium przez farmera rozpoczęli badania zostawionej krwi i paszy. Badania, które potem miały zaowocować kilkunastoma publikacjami oraz dziełem życia Linka – warfaryną (DUXBURY i POLLER 2001).

Próby izolacji substancji odpowiedzialnej za hamowanie koagulacji krwi obecnej w nostrzyku przez kilka lat były bezowocne. W 1939 r., po nocy spędzonej nad izolowaniem czynnika krwotocznego, Campbell, współpracownik Linka, zauważył na szkiełku mikroskopowym kryształy substancji, którą później zidentyfikowano jako dikumarol. W ostateczności udało się wyizolować 6 mg dikumarolu, co wystarczyło do potwierdzenia jego aktywności przeciwzakrzepowej kilka dni później (LINK 1959). Dalsze prace badawcze pozwoliły ustalić strukturę chemiczną dikumarolu, który był pochodną układu benzopironu, zbliżonego strukturalnie do kumaryny, zawartej w świeżym nostrzyku (Ryc. 7a). Ustalono, iż nieaktywna kumaryna zawarta w sianie, pod wpływem enzymów pleśni przekształcana jest do dikumarolu (Ryc. 7b).

Dikumarol, ze względu na podobieństwo strukturalne do witamin z grupy K (Ryc. 7c), odpowiedzialnych za prawidłowe krzepnięcie krwi, jest kompetycyjnym inhibitorem reduktaz witamin K. Inaktywacja tych enzymów uniemożliwia regenerację witaminy K, co zapobiega tworzeniu się aktywnej postaci protrombiny (STAFFORD 2005). Dlatego spożycie dikumarolu zawartego w pleśniejącym sianie powodowało zahamowanie powstawania aktywnej formy witaminy K i innych



Ryc. 8. Karl Link i wzór strukturalny warfaryny



Ryc. 9. Wzory strukturalne: a) chloropromazyny; b) rezerpiny; c) meprobamatu.

czynników krzepnięcia krwi, co skutkowało krwotokami (WITTKOWSKY 2003). Działanie dikumarolu jest odwracalne poprzez podanie odpowiednich dawek witaminy K. Ze względu na ciekawy mechanizm działania, przy jednoczesnym braku działania hepatotoksycznego, dikumarol został wprowadzony na rynek farmaceutyczny jako lek przeciwzakrzepowy (ALLEN i WAUGH 1942). Dikumarol umożliwił leczenie zakrzepicy oraz profilaktykę zakrzepic różnorodnego pochodzenia. W późniejszej pracy badawczej, Link skupił się na uzyskaniu innych pochodnych dikumarolu i badaniu ich właściwości przeciwzakrzepowych (KRESGE i współaut. 2005). Jedną z pochodnych, którą opracował, była warfaryna (Ryc. 8), wprowadzona początkowo do sprzedaży jako trutka na szczury (LINK 1959).

Kilka lat później przypadkowo odkryto, iż warfaryna posiada 5 do 10 razy wyższą aktywność przeciwzakrzepową niż dikumarol (LINK 1959). Wszystko za sprawą historii pewnego rekruta, który nadzorował transport trutki na szczury. Mężczyzna postanowił odebrać sobie życie spożywając opakowanie trutki zawierające 567 mg warfaryny, lecz działanie substancji opóźniało się, co skłoniło go do refleksji i skierowania się do szpitala. Lekarze, którzy byli już zaznajomieni z mechanizmem działania dikumarolu, podejrzewając, iż mężczyznę można uchronić przed skutkami choroby krwotocznej podając witaminę K, zastosowali leczenie dużymi dawkami tej witaminy. Pacjenta ostatecznie udało się uratować, co skłoniło badaczy do dalszych badań nad efektami terapeutycznymi warfaryny, która została wprowadzona na rynek jako lek przeciwzakrzepowy.

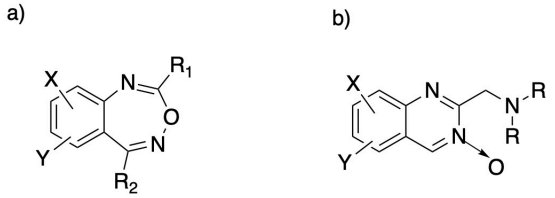
Początkowo leczenie pacjentów przy pomocy „trutki" nie spotkało się jednak ze zbyt dużym entuzjazmem wśród lekarzy i warfaryna nie zdobyła popularności. Sytuację zmieniły dopiero problemy zdrowotne prezydenta Stanów Zjednoczonych, Dwighta Eisenhowera – po ataku serca w 1953 r. leczony był on właśnie warfaryną. Lek, który zastosowano u prezydenta, stał się w świadomości społeczeństwa lekiem bezpiecznym (DUXBURY i POLLER 2001).

Obecnie warfaryna znajdujące się na Liście Leków Niezbędnych WHO. Stała się również punktem wyjścia do syntezy innych pochodnych kumaryny, takich jak acenokumarol, który obecnie jest na całym świecie stosowany w leczeniu i profilaktyce zakrzepic różnorodnego pochodzenia.

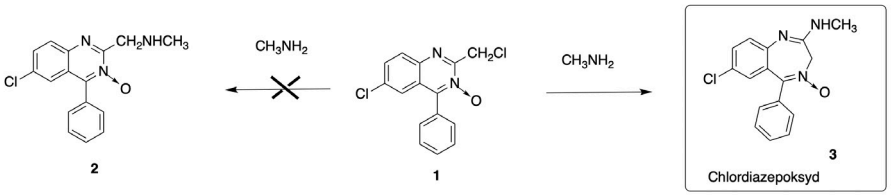
MALI POMOCNICY

Zaburzenia lękowe, będące obecnie jednym z najczęstszych schorzeń psychiatrycznych, dotykają w ciągu życia ok. 14% społeczeństw wysokorozwiniętych (WITTCHEN i współaut. 2011). W Stanach Zjednoczonych ponad 40 milionów osób cierpi na zespół lęku uogólnionego, zespół lęku napadowego, zespół stresu pourazowego, zaburzenia obsesyjno-kompulsywne lub inne formy zaburzeń lękowych (CALCATERRA i BARROW 2014). Chociaż szacunki dotyczące ich rozpowszechnienia na świecie różnią się, zaburzenia lękowe i braki w leczeniu są częstym problemem zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się.

Na początku XX w. pierwsze metody leczenia farmakologicznego zaburzeń lękowych wykorzystywały ówcześnie dostępne leki przeciwdepresyjne i leki wykazujące właściwości sedatywne: alkohol, opioidy, bromek litu czy wodzian chloralu. W pierwszej połowie XX w. zostały one w dużej mierze wyparte przez karbaminiany (meprobamat) i barbiturany (fenobarbital). Jednak dopiero w latach 60. dostępna stała się specyficzna farmakoterapia oparta na lekach z grupy benzodiazepin, które wykazywały wyraźny profil przeciwlękowy. Benzodiazepiny stanowiły nową obiecującą klasę anksjolityków,



Ryc. 10. a) Wzór ogólny benzheptoksydiazyn, b) przykład zsyntezowanego przez Sternbacha tlenku chinazoliny.



Ryc. 11. Pierwsza, nieprawidłowa propozycja reakcji i wzoru strukturalnego nowo odkrytej substancji (2) oraz faktyczna reakcja, prowadząca do otrzymania chlordiazepoksydu (3).

nie wywołującą znaczących działań niepożądanych i ryzyka nagłej śmierci (CALCATERRA i BARROW 2014). Pierwszą benzodiazepiną, a zarazem prekursorem diazepamu (*Valium*), jednego z najczęściej przepisywanych leków anksjolitycznych (BLACKWELL 1973), był chlordiazepoksyd (*Librium,* patrz Ryc. 11).

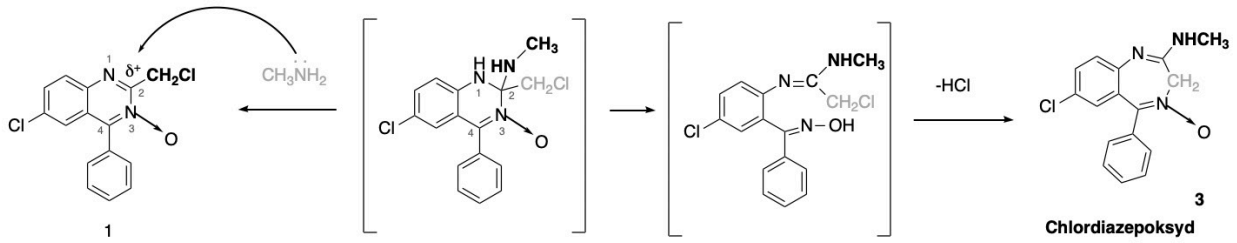
Odkrycie benzodiazepin przez Leo Sternbacha (1908-2005) było jednak, jak sam stwierdził, „łańcuchem zdarzeń zapoczątkowanym przez przypadkową syntezę nowych związków chemicznych" (STERNBACH 1979). Początek tego ciągu wydarzeń można umiejscowić w latach 30. XX w., kiedy to Sternbach, podczas badań na Uniwersytecie Jagiellońskim, pracował m. in. nad heterocyklicznymi benzheptoksydiazynami, które próbowano zastosować jako nową klasę barwników. Prace te jednak przerwano z uwagi na brak pożądanych właściwości otrzymanych związków (DZIEWOŃSKI i STERNBACH 1933). Dwadzieścia lat później, kiedy Sternbach pracował już dla koncernu farmaceutycznego Hoffmann-La Roche, rozpoczął poszukiwania nowych substancji o właściwościach anksjolitycznych. Rozważając budowę istniejących ówcześnie na rynku leków, które wykazywały właściwości uspokajające, tj. chloropromazyny, rezerpiny i meprobamatu (Ryc. 9) oraz cząsteczek, nad którymi pracował w Krakowie (Ryc. 10), zauważył możliwość modyfikacji układu benzheptoksydiazyny, która niosła nadzieję na uzyskanie nowych cząsteczek biologicznie aktywnych (COHEN 1970).

Poszukiwana substancja miała mieć budowę trójcykliczną i posiadać zasadowy atom azotu w łańcuchu bocznym. Badania wykazały jednak, że syntezowane związki, zamiast postulowanej struktury benzheptoksydiazyn (Ryc. 10a), były w rzeczywistości tlenkami chinazoliny (Ryc. 10b). Jednocześnie, żaden z otrzymanych związków nie wykazywał aktywności farmakologicznej. Badania zawieszono, a Sternbach zajął się pracą nad antybiotykami.

Po niemal dwóch latach, wiosną 1957 r., brak czystego szkła zmusił zespół do generalnych porządków w laboratorium. Wtedy natrafiono na krystaliczną zasadę i jej chlorowodorek, pozostałe z wcześniejszych badań. Sternbach, mimo przekonania o nieprzydatności również tego związku, zlecił jednak badania jego aktywności farmakologicznej, w nadziei na zebranie przynajmniej materiałów do publikacji (MEYERS 2007). Niespodziewanie, badana cząsteczka wykazała interesujący profil farmakologiczny i dominujące właściwości anksjolityczne, obok właściwości przeciwpadaczkowych i zwiotczających mięśnie szkieletowe (miorelaksacyjnych). Ponadto, obserwowane efekty farmakologiczne wystąpiły w dużo niższych dawkach w stosunku do leków referencyjnych (chloropromazyny i meprobamatu) (RANDALL i współaut. 1960). W momencie odkrycia właściwości farmakologicznych, struktura cząsteczki nie była znana – wiadomo było jedynie, że zawarta w zlewce substancja powstała w wyniku reakcji *N*-tlenku chinazoliny z metyloaminą (Ryc. 11). Sternbach spodziewał się, iż w tej reakcji otrzyma cząsteczkę bicykliczną, a atom chloru ulegnie substytucji prowadząc do otrzymania drugorzędowej aminy w łańcuchu alifatycznym (Struktura 2, Ryc. 11). Jednak analiza widm UV i IR nie wskazała na obecność struktury 2 (SILVERSTEIN i współaut. 2007).

Dalsze analizy pozwoliły na wyznaczenie prawidłowej struktury chlordiazepoksydu 3 (Ryc. 11), zawierającej pierścień siedmioczłonowy (STERNBACH i REEDER 1961). Tak odmienna od pierwotnie przewidywanej struktura musiała powstać w wyniku nieznanego wówczas mechanizmu. Zasugerowano, iż mechanizm reakcji opiera się na ataku nukleofilowym atomu azotu metyloaminy na węgiel C2, na którym znajduje się cząstkowy ładunek dodani (d^+) (Ryc. 12). Następnie atom chloru ulega eliminacji, co powoduje zamknięcie pierścienia i utworzenie struktury końcowej chlordiazepoksydu (Struktura 3, Ryc. 12).

Nowo odkryty mechanizm reakcji tlenków chinazoliny z aminami pierwszorzędowymi (lub amoniakiem) pozwolił na syntezę szeregu nowych związków i zapewnił Sternbachowi patent już w 1959 r., natomiast chlordiazepoksyd, pod nazwą handlową „Librium" został wprowadzony na rynek w 1960 r. (STERNBACH 1979).

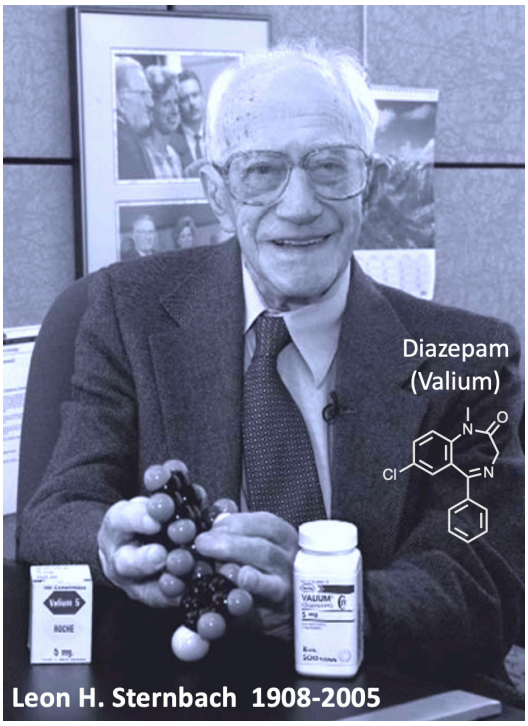


Ryc. 12. Mechanizm powstawania chlordiazepoksydu.

Mechanizm działania chlordiazepoksydu opisano dopiero w 1977 r. (CALCATERRA i BARROW 2014). Podobnie jak pozostałe benzodiazepiny, chlordiazepoksyd jest allosterycznym modulatorem receptora GABA-A. Wiąże się z receptorem GABA-A w innym miejscu niż endogenny agonista kwas γ-aminomasłowy (GABA), nasilając jego działanie. Receptor GABA-A zbudowany jest z pięciu podjednostek, które wewnątrz tworzą kanał jonowy, selektywnie przepuszczalny dla jonów chlorkowych. Pozytywne modulatory allosteryczne zwiększają częstotliwość otwarcia kanału jonowego, co powoduje zwiększony napływ jonów chlorkowych do wnętrza komórki, hiperpolaryzację i blokowanie przekazywania impulsu nerwowego (CALCATERRA i BARROW 2014). Pierwszą strukturę krystaliczną receptora GABA-A ustalono dopiero w 2014 r. (MILLER i ARICESCU 2014).

Chlordiazepoksyd jest substancją niestabilną o gorzkim smaku, co skłoniło zespół Sternbacha do poszukiwania innych pochodnych układu benzodiazepiny, pozbawionych niekorzystnych właściwości. W ten sposób opracowano liczne pochodne, w tym diazepam (Ryc. 13), który cechował się 3-10 większą aktywnością farmakologiczną w stosunku do chlordiazepoksydu. Diazepam został wprowadzony później na rynek jako „Valium". W latach 70. diazepam szybko uzyskał status najlepiej sprzedającego się leku. W 1978 r. Amerykanie spożyli łącznie 2,3 miliarda małych, „żółtych tabletek" diazepamu (MEYERS 2007), które stały się ikoną kultury popularnej, słynnym „Mother's little helper" z piosenki The Rolling Stones. Aktualnie benzodiazepiny stanowią liczną grupę substancji, z których kilkanaście jest stosowanych jako leki. W klinice wykorzystuje się ich właściwości przeciwlękowe, nasenne, miorelaksacyjne i przeciwpadaczkowe (GRIFFIN i współaut. 2013).

W 2005 r. Leon Henryk Sternbach został uznany za jednego z najbardziej wpływowych Amerykanów (XX w.) i został wprowadzony do National Hall of Fame of Inventors. Warto wspomnieć, iż L. H. Sternbach jest absolwentem studiów farmaceutycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Uzyskanie tytułu magistra farmacji (1926 r.) miało mu zapewnić niezbędne kwalifikacje, aby po ojcu przejąć prowadzenie apteki. Jednak w trakcie studiów zainspirował się wykładami z chemii organicznej, prowadzonymi przez wybitnego dydaktyka Prof. Karola Dziewońskiego, i postanowił skierować swoją karierę zawodową w stronę badań z zakresu chemii organicznej. W 1931 r. ukończył studia chemiczne uzyskując stopień doktora, a następnie rozpoczął pracę jako asystent w II Zakładzie Chemii Organicznej UJ, gdzie pracował nad syntezą barwników przemysłowych. W wyniku redukcji etatów, został zwolniony w 1936 r., co skłoniło go do wyjazdu do Wiednia. W 1940 r. przeniósł się do Bazylei, gdzie zatrudnił się w koncernie farmaceutycznym Hoffman-La Roche. Rok później



Ryc. 13. Leon Henryk Sternbach i jego największy wynalazek: diazepam (*Valium*).

przeniósł się do nowego ośrodka firmy utworzonego w Stanach Zjednoczonych, gdzie pracował do 95 roku życia. Odkrycie i wprowadzenie na rynek pochodnych benzodiazepin uczyniło koncern Hoffman-La Roche jedną z najpotężniejszych firm farmaceutycznych na świecie, a Leon H. Sternbach został uznany przez szefów Roche za „wynalazcę nad wynalazcami". Życie Sternbacha można podsumować jego własnymi słowami: „przez całe swoje życie kochałem chemię, kochałem pracę w laboratorium, uważałem to za coś najlepszego i najbardziej interesującego, kochałem swoje życie".

PODSUMOWANIE

Szczęśliwe przypadki odegrały dużą rolę w odkryciu i wprowadzeniu na rynek leków takich jak diazepam czy *cis*-platyna, których historia udowadnia, że w sytuacjach, kiedy starannie zaplanowana procedura badawcza nie przynosi spodziewanych rezultatów, największe odkrycie może być wynikiem przypadku. Dużą rolę odgrywa też sam badacz, który potrafi rozpoznać potencjał uzyskanych wyników i odpowiednio wcześnie wyciągnąć prawidłowe wnioski z doświadczenia, tak jak to miało miejsce w przypadku odkrycia paracetamolu czy warfaryny. Dlatego nie bez znaczenia jest stwierdzenie Wolfganga Goethego, że proces odkrywania wymaga zarówno szczęścia, pomysłowości, jak i intelektu – jeden czynnik nie może istnieć bez pozostałych.

Badaniom naukowym od zawsze towarzyszyło szczęście – przedstawione w powyższej pracy odkrycia są zaledwie kilkoma z wielu przełomowych leków oraz wynalazków, które ludzkość zawdzięcza przypadkowi.

Streszczenie

Szczęśliwy traf (z ang. serendipity), oznacza zjawisko zbiegu okoliczności prowadzące do niespodziewanych odkryć, które może być również związane z umiejętnością wyciągania wartościowych wniosków z pozornie nieistotnych wyników. Odkrycie penicyliny G mogłoby nie mieć miejsca, gdyby nie warunki pogodowe w Wielkiej Brytanii w trakcie urlopu Alexandra Fleminga w 1928 r., podczas gdy poznanie benzodiazepin, jednej z najważniejszych grup leków anksjolitycznych, pośrednio można zawdzięczać wyczerpaniu zapasu czystego szkła w laboratorium Leona Sternbacha. Odkrycie przeciwzakrzepowej warfaryny nie miałoby miejsca, gdyby nie spontaniczne krwotoki u bydła oraz nieudana próba samobójcza młodego rekruta. Pomyłka w aptecznej dostawie przyczyniła się do późniejszego wprowadzenia do lecznictwa paracetamolu, a błędna teoria wpływu pola elektrycznego na podziały komórkowe zaowocowała wynalezieniem przeciwnowotworowych leków alkilujących, takich jak *cis*-platyna. Niniejsza praca opisuje historię leków, których odkrycie zawdzięcza się przypadkowym zbiegom okoliczności.

LITERATURA

Abraham E. P., Chain E., Fletcher C. M., Florey H. W., Gardner A. D., Heatley N. G., Jennings G. A., 1941. *Further observations on penicillin.* Lancet 238, 177-189.

Allen E. V., Waugh J. M., 1942. *A preparation from spoiled sweet clover [3,3'-methylene-bis-(4-hydroxycoumarin)] which prolongs coagulation and prothrombin time of the blood: a clinical study.* JAMA 120, 1009-1015.

Allison V. D., 1974. *Personal recollections of Sir Almroth Wright and Sir Alexander Fleming.* Ulster Med. J. 43, 89-98.

Allison v. d., Fleming a., 1922. *Observations on a bacteriolytic substance („lysozyme") found in secretions and tissues.* Brit. J. Exp. Pathol. 3, 252-260.

Athersuch T. J., Antoine D. J., Boobis A. R., Coen M., Daly A. K., Possamai L., Nicholson J. K., Wilson I. D., 2018. *Paracetamol metabolism, hepatotoxicity, biomarkers and therapeutic interventions: a perspective.* Toxicol. Res. 7, 347-357.

Axelrod J., 1988. *An unexpected life in research.* Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 28, 1-23.

Baik M. H., Friesner R. A., Lippard S. J., 2003. *Theoretical study of cisplatin binding to purine bases: why does cisplatin prefer guanine over adenine?* J. Am. Chem. Soc. 125, 14082-14092.

Barreiro C., Martin J. F., Garcia-Estrada C., 2012. *Proteomics shows new faces for the old penicillin producer Penicillium chrysogenum.* J. Biomed. Biotechnol. 2012, 1-15.

Bäumler E., 1995. *Wielkie leki: historie, odkrycia, nadzieje.* Iskry, Warszawa.

Bennett J. W., Chung K.-T., 2001. *Alexander Fleming and the discovery of penicillin.* Adv. Appl. Microbiol. 49, 163-184.

Bentley R., 2005. *The development of penicillin. Genesis of a famous antibiotic.* Perspect. Biol. Med. 48, 444-452.

Bentley R., 2009. *Different roads to discovery; prontosil (hence sulfa drugs) and penicillin (hence β-laktams).* J. Indust. Microbiol. Biotechnol. 36, 775-786.

Bertolini A., Ferrari A., Ottani A., Guerzoni S., Tacchi R., Leone S., 2006. *Paracetamol: new vistas of an old drug.* CNS Drug Rev. 12, 250-275.

Blackwell B., 1973. *Psychotropic drugs in use today. The role of diazepam in medical practice.* JAMA 225, 1637-1641.

Bornstein S., 1939. *Action of penicillin on Enterococci and other Streptococci.* J. Bacteriol. 39, 4, 383-387.

Brodie B. B., Axelrod J., 1948. *The fate of acetanilide in man.* J. Pharmacol. Exp. Therapeut. 94, 29-38.

Brodie B. B., Axelrod J., 1949. *The fate of acetophenitidin (phenacetin) in man and methods for the estimation of acetophenetidin and its metabolites in biological material.* J. Pharmaco. Exp. Therapeut. 97, 58-67.

Brune K., 1997. *The early history of non-opioid analgesics.* Acute Pain 1, 33-40.

Brune K., Hinz B., 2004. *The discovery and development of antiinflammatory drugs.* Arthritis Rheumat. 50, 2391-2399.

Brune K., Renner B., Tiegs G., 2014. *Acetaminophen/paracetamol: A history of errors, failures and false decisions.* Eur. J. Pain 19, 953-965.

BUCCI R., GALLI P., 2011. *Vincenzo tiberio: a misunderstood researcher.* Ital. J. Public Health 8, 404-406.

CAHN A., HEPP P., 1886. *Das Antifebrin, ein neues Fiebermittel.* Centralblatt für Klinische Medizin 7, 561-564.

CALCATERRA N. E., BARROW J. C., 2014. *Classics in chemical neuroscience: diazepam (valium).* ACS Chem. Neurosci. 5, 253-260.

CHAIN E., FLOREY H. W., GARDNER A. D., HEATLEY N. G., JENNINGS M. A., ORR-EWING J., SANDERS A. G., 1940. *Penicillin as a chemotherapeutic agent.* Lancet 236, 226-228.

CLUTTERBUCK P. W., LOVELL R., RAISTRICK H., 1932. *Studies in the biochemistry of micro-organisms: the formation from glucose by members of the Penicillium chrysogenum series of a pigment, an alkali-soluble protein and penicillin – the antibacterial substance of Fleming.* Biochem. J. 26, 1907-1918.

COHEN I. M., 1970. *The benzodiazepines.* [W:] *Discoveries in Biological Psychiatry.* AYD F. J., BLACKWELL B. (red.). Lippincott Company, Toronto, 110-141.

DUCHESNE E., 1897. *Contribution à l'Étude de la Concurence Vitale chez les Microorganismes. Antagonisme entre les Moisissures et les Microbes.* Alexandre Rey, Imprimeur de la Faculté de Médecine, Lyon.

DUISBERG C., 1913. *Zur Geschichte der Entdeckung des Phenacetins.* Angewandte Chemie 26, 240.

DUXBURY B. M., POLLER L., 2001. *The oral anticoagulant saga: past, present, and future.* Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis 7, 269-275.

DZIEWOŃSKI K., STERNBACH L. H., 1933. *O działaniu chlorku benzoilu na a-naftylamin.* Buli. Ac. Pol., 416.

FARRIS C., 2019. *Moldy Mary... or a simple messenger girl?* Peoria Magazine.

FLEMING A., 1929. *On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzae.* Brit. J. Exp. Pathol. 10, 226-236.

FLEMING A., 1945. *Penicillin. Nobel Lecture, December 11, 1945. Nobel Lectures, Physiology or Medicine, 1942-1962.* Elsevier, Amsterdam 1964, 83-93.

FRANCIS A. M., 2013. *The wages of sin: how the discovery of penicillin reshaped modern sexuality.* Arch. Sexual Behav. 42, 5-13.

GAULT M. H., SHAHIDI N. T., BARBER V. E., 1974. *Methemoglobin formation in analgesic nephropathy.* Clin. Pharmacol. Therapeut. 15, 521-527.

GAVVA N. R., 2008. *Body-temperature maintenance as the predominant function of the vanilloid receptor TRPV1.* Trends Pharmacol. Sci. 29, 550-557.

GAYNES R., 2017. *The discovery of penicillin – new insights after more than 75 years of clinical use.* EID J. 23, 849-853.

GHANEM C. I., PEREZ M. J., MANAUTOU J. E., MOTTINO A. D., 2016. *Acetaminophen, from liver to brain: new insights into drug pharmacological action and toxicity.* Pharmacol. Res. 109, 119-131.

GOTTFRIED J., 2005. *History repeating? Avoiding a return to the Pre-Antibiotic Age.* Harvard University 2005 Third Year Paper, Harvard.

GRIFFIN C. E., KAYE A. M., RIVERA BUENO F., KAYE A. D., 2013. *Benzodiazepine pharmacology and central nervous system-mediated effects.* Ochsner J. 13, 214-223.

HARE R., 1982. *New light on the history of penicillin.* Med. History 26, 1-24.

HENDERSON J. W., 1997. *The yellow brick road to penicillin: a story of serendipity.* Mayo Clin. Proceed. 72, 7, 683-687.

HEYMANN E., KRISCH K., BUCH H., BUZELO W., 1969. *Inhibition of phenacetin- and acetanilide- induced methemoglobinemia in the rat by the carboxylesterase inhibitor bis-[p-nitrophenyl] phosphate.* Biochem. Pharmacol. 18, 801-811.

IZAKI K., MATSUHASHI M., STROMINGER J. L., 1966. *Glycopeptide transpeptidase and D-alanine carboxypeptidase: penicillin-sensitive enzymatic reactions.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 55, 656-663.

KLEBE G., 2013. *In the beginning, there was serendipity.* [W:] *Drug Design. Methodology, Concepts and Mode-of-Action.* KLEBE G. (red.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 23-35.

KOZAKIEWICZ B., KACZMARCZYK M., 2011. *Cisplatyna – lek z przypadku.* Curr. Gynecol. Oncol. 10, 131-140.

KRESGE N., SIMONI R. D., HILL R. L., 2005. *Hemorrhagic sweet clover disease, dicumarol and warfarin: the work of Karl Paul Link.* J. Biol. Chem. 280, e5-e6.

LAST J. A., 2002. *Profiles in toxicology. The missing link: the story of Karl Paul Link.* Toxicol. Sci. 66, 4-6.

LIGON B. L., 2004. *Penicillin: its discovery and early development.* Seminars Pediatr. Infect. Diseases 15, 52-57.

LINK K. P., 1959. *The discovery of dicumarol and its sequels.* Circulation 19, 97-107.

MEREDITH T. J., GOULDING R., 1980. *Paracetamol.* Postgrad. Med. J. 56, 459-473.

MEYERS M., 2007. *Happy accidents. Serendipity in modern medical breakthroughs.* Arcade Publishing, New York.

MILLER P. S., ARICESCU A. R., 2014. *Crystal structure of a human GABA-A receptor.* Nature 512, 270-275.

MOESCHLIN S., 1957. *Phenacetin addiction and injurious effects; inclusion-body anemia and interstitial nephritis.* Schweizerische Medizinische Wochenschrift 87, 123-128.

MONNERET C., 2011. *Platinum anticancer drugs. from serendipity to rational design.* Ann. Pharmaceut. Françaises 69, 286-295.

MORSE H. N., 1878. *Ueber eine neue Darstellungsmethode der Acetylamidophenole,* Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft 11, 232-233.

PETSKO G. A., 2001. *A Christmas carol.* Genome Biol. 3, 1001.1-1001.2.

POTTEGARD A., 2018. *Trends in use of paracetamol in the Nordic Countries.* Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 123, 301-307.

PRESCOTT L. F., 1980. *Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin.* Brit. J. Clin. Pharmacol. 10, 291S-298S.

RANDALL L. O., SCHALLEK W., HEISE G. A., KEITH E. F., BAGDON R. E., 1960. *The psychosedative properties of methaminodiazepoxide.* J. Pharmacol. Exp. Therapeut. 129, 163-171.

REID R. D., 1934. *Some properties of a bacterial-inhibitory substance produced by a mold.* J. Bacteriol. 29, 215-221.

RODERICK L. M., 1931. *A problem in the coagulation of the blood: „Sweet clover disease of cattle".* Am. J. Physiol. 96, 413-425.

ROSENBERG B., 1971. *Some biological effects of platinum compounds. New agents for the control of tumours.* Platinum Metals Rev. 15, 42-51.

ROSENBERG B., VAN CAMP L., KRIGAS T., 1965. *Inhibition of cell division in Escherichia coli by*

electrolysis products from a platinum electrode. Nature 205, 698-699.
ROSENBERG B., VAN CAMP L., TROSKO J. E., MANSOUR V. H., 1969. *Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents.* Nature 222, 385-386.
SIEGEL R. L., MILLER K. D., JEMAL A., 2020. *Cancer statistics, 2020.* Cancer J. Clin. 70, 7-30.
SILVERSTEIN R. M., WEBSTER F. X., KIEMLE D. J., 2007. *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych.* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
STAFFORD D. W., 2005. *The vitamin K cycle.* J. Thrombosis Haemostasis 3, 1873-1878.
STEINHILBER D., SCHUBERT-ZSILAVECZ M., ROTH H. J., 2012. *Chemia medyczna.* MedPharm Polska, Wrocław.
STERNBACH L. H., 1979. *The benzodiazepine story.* J. Med. Chem. 22, 1-7.
STERNBACH L. H., REEDER E., 1961. *Quinazolines and 1,4-benzodiazepines. II.*[1] *The rearrangement of 6-chloro-2-chloromethyl-4-phenylquinazoline 3-oxide into 2-amino derivatives of 7-chloro-5-phenyl-3h-1,4-benzodiazepine 4-oxide.* J. Org. Chem. 26, 1111-1118.
THOM C., 1945. *Mycology presents penicillin.* Mycologia 37, 460-475.
TYNDALL J., 1884. *Essays on the Floating-Matter of the Air in Relation to Putrefaction and Infection.* D. Appleton and Company, New York.
VARASSI G., MULLER-SCHWEFE G., PERGOLIZZI J., OROŃSKA A., MORLION B., MAVROCORDATOS P., MARGARIT C., MANGAS C., JAKSCH W., HUYGEN F., COLLETT B., BERTI M., ALDINGTON D., AHLBECK K., 2010. *Pharmacological treatment of chronic pain – the need for change.* Curr. Med. Res. Opin. 26, 1231-1245.
VON MEHRING J., 1893. *Beiträge zur Kenntnis der Antipyretica.* Therapeutische Monatsschrift 7, 577-587.
WARDROP D., KEELING D., 2008. *The story of the discovery of heparin and warfarin.* Brit. J. Haematol. 141, 757-763.
WASTESSON J. W., MARTIKAINEN J. E., ZOEGA H., SCHMIDT M., KARLSTAD O.,
WITTCHEN H. U., JACOBI F., REHM J., GUSTAVSSON A., SVENSSON M., JONSSON B., OLESEN J., ALLGULANDER C., ALONSO J., FARAVELLI C., FRATIGLIONI L., JENNUM P., LIEB R., MAERCKER A., VAN OS J., PREISIG M., SALVADOR-CARRULLA L., SIMON R., STEINHAUSEN H.-C., 2011. *The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010.* Eur. Neuropsychopharmacol. 21, 655-679.
WITTKOWSKY A. K., 2003. *Warfarin and other coumarin derivatives: pharmacokinetics, pharmacodynamics, and drug interactions.* Seminars Vasc. Med. 3, 221-230.

KOSMOS Vol. 70, 4, 637–649, 2021

KATARZYNA SZAFRAŃSKA, MONIKA MARCINKOWSKA, NIKOLA FAJKIS-ZAJĄCZKOWSKA, MARCIN KOŁACZKOWSKI

[1]*Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College, Krakow, 9 Medyczna Str., 30-688 Kraków, E-mail: monika.marcinkowska@uj.edu.pl*

BREAKTHROUGH AND SERENDIPITOUS DISCOVERIES IN THE HISTORY OF PHARMACY

Summary

Serendipity is a word used to describe a common occurrence in the scientific world in which a lucky sequence of events, supported by solid scientific preparations and the ability to draw conclusions from observations, leads to unexpected and sometimes bizarre findings. The discovery of penicillin G might not have happened had it not been for the weather conditions in Great Britain during Alexander Fleming's leave in 1928, while benzodiazepines, one of the most important classes of anxiolytic drugs, may be indirectly due to the depletion of clean glass in Leon Sternbach's laboratory. The discovery of anticoagulant - warfarin - would not have happened had it not been for the spontaneous hemorrhages in cattle and the unsuccessful suicide attempt of a young recruit. A mistake in the pharmacy delivery contributed to the subsequent introduction of paracetamol to the treatment, and the erroneous theory of the influence of the electric field on cell division resulted in the invention of anti-cancer alkylating drugs, such as cis-platinum. This work describes the history of drugs the discovery of which is due to random coincidences.

Key words: acetanilide, Cisplatin, Chlordiazepoxide, diazepam, dicoumarol, Penicilline, paracetamol, Warfarin