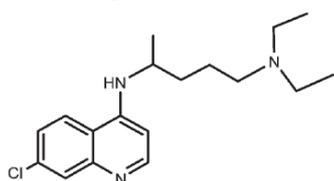


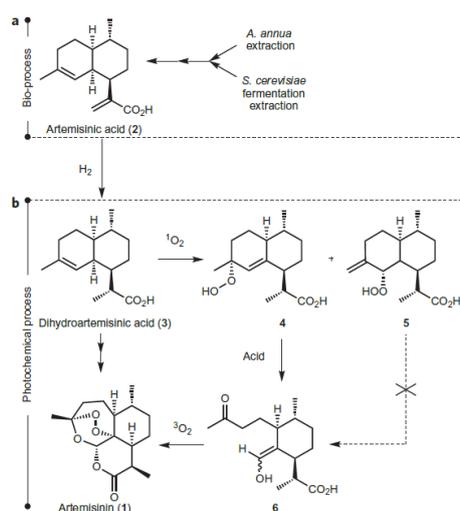
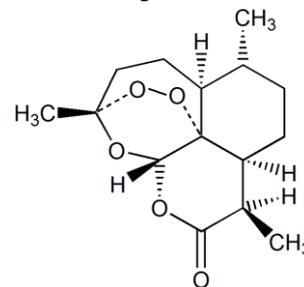
Composti antimalarici

La malaria è una malattia infettiva, presente nella maggior parte delle regioni tropicali, trasmessa tramite la puntura della femmina (infetta) della zanzara Anofele. Quindi la zanzara è il vettore della malattia. L'agente causativo della malattia è un *plasmodio*, un organismo eucariota unicellulare. La malaria è la più grave malattia infettiva da parassiti che colpisce più di 500 milioni di persone (mentre quelle a rischio si stima siano 3.3 miliardi) e causa ogni anno poco meno di un milione di morti, ma fino a pochi anni fa il numero di morti poteva arrivare fino a 3 milioni. Si stima che in Africa sia responsabile per il 20% delle morti infantili. Questo enorme problema sanitario viene affrontato secondo almeno tre diversi approcci: (1) insetticidi, (2) vaccini e (3) medicinali. L'uso di insetticidi è efficiente e oggi consiste essenzialmente di spray indoor e di materiali trattati con insetticidi, tipo zanzariere da letto. Tuttavia studi recenti indicano che le zanzare stanno rapidamente sviluppando resistenza agli insetticidi. Chiaramente un vaccino rappresenterebbe l'arma definitiva per prevenire la trasmissione della malaria e quindi portare in definitiva al suo sradicamento, soprattutto in aree come l'Africa tropicale. Sono stati e si stanno valutando numerose proteine e meccanismi come possibili target per vaccini e ci sono numerosi studi clinici condotti sul campo. Nonostante gli sforzi, al momento non è ancora disponibile un vaccino. Tuttavia, nel 2011 sono stati pubblicati i risultati molto promettenti di uno studio clinico di fase III condotto su più di 15.000 pazienti da sette Nazioni africane. Il terzo approccio, cioè l'uso di farmaci, è particolarmente



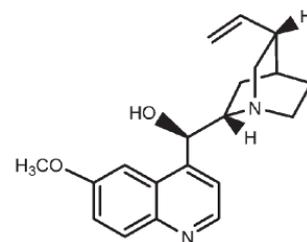
adatto in quelle aree dove la trasmissione è moderata e la gestione della salute pubblica è ben sviluppata. Fino verso la metà del secolo scorso, la **cloroquina** (CQ) era il farmaco più efficace per trattare la malaria, ma il parassita ha sviluppato una resistenza globale a questa molecola (a partire dalla fine degli anni 1950) che ora è stata praticamente abbandonata. Oggi le terapie più efficaci

sono basate sull'**artemisinina** (figura), un lattone con un endo-perossido. Il suo scopritore, la scienziata cinese You You Tu è stata insignita del premio Nobel per la medicina nel 2015. Sfortunatamente, nel sud-est asiatico, dove l'uso di artemisina come mono-terapia è molto comune, si è già osservato lo sviluppo di resistenza. Inoltre, l'estrazione della molecola dalla pianta di *Artemisia* che la produce è un processo molto lungo e non sempre la produzione è sufficiente. La Sanofi ha messo a punto un



processo semi-sintetico, comunque piuttosto complesso, che inizia con una biosintesi in un lievito geneticamente modificato che converte il glucosio in acido artemisinico, il quale viene poi trasformato in artemisinina in una serie di stadi chimici che prevedono, tra l'altro, anche la fotogenerazione di $^1\text{O}_2$ (figura).

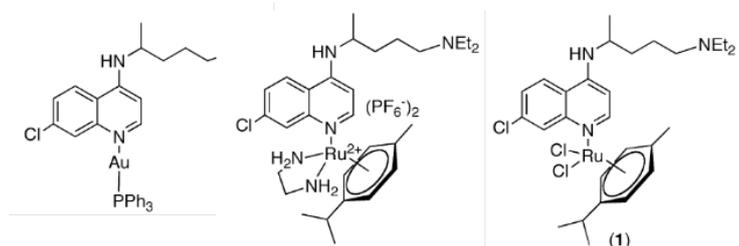
Nell'uomo il parassita, in un ciclo molto complesso, invade i globuli rossi e ne distrugge l'emoglobina in un processo che avviene in un vacuolo "digestivo" in ambiente acido (pH 5.2 – 5.6), generando un polimero cristallino insolubile del Fe-eme chiamato **emozoina**. Si ritiene che il meccanismo d'azione degli antimalarici basati sul nucleo 4-aminochinolinico, come cloroquina e altri derivati, tra cui il vecchio **chinino** (figura), usato dal 1630 fino all'inizio del



secolo scorso, interferisca nella degradazione dell'emoglobina, impedendo la formazione dell'emozoina e inducendo l'accumulo dell'eme o dell'ematina (acquo-Fe(III)-protoporfirina IX) che sono tossici per il parassita, presumibilmente perché generano ROS. Sembra che la resistenza alla CQ sia

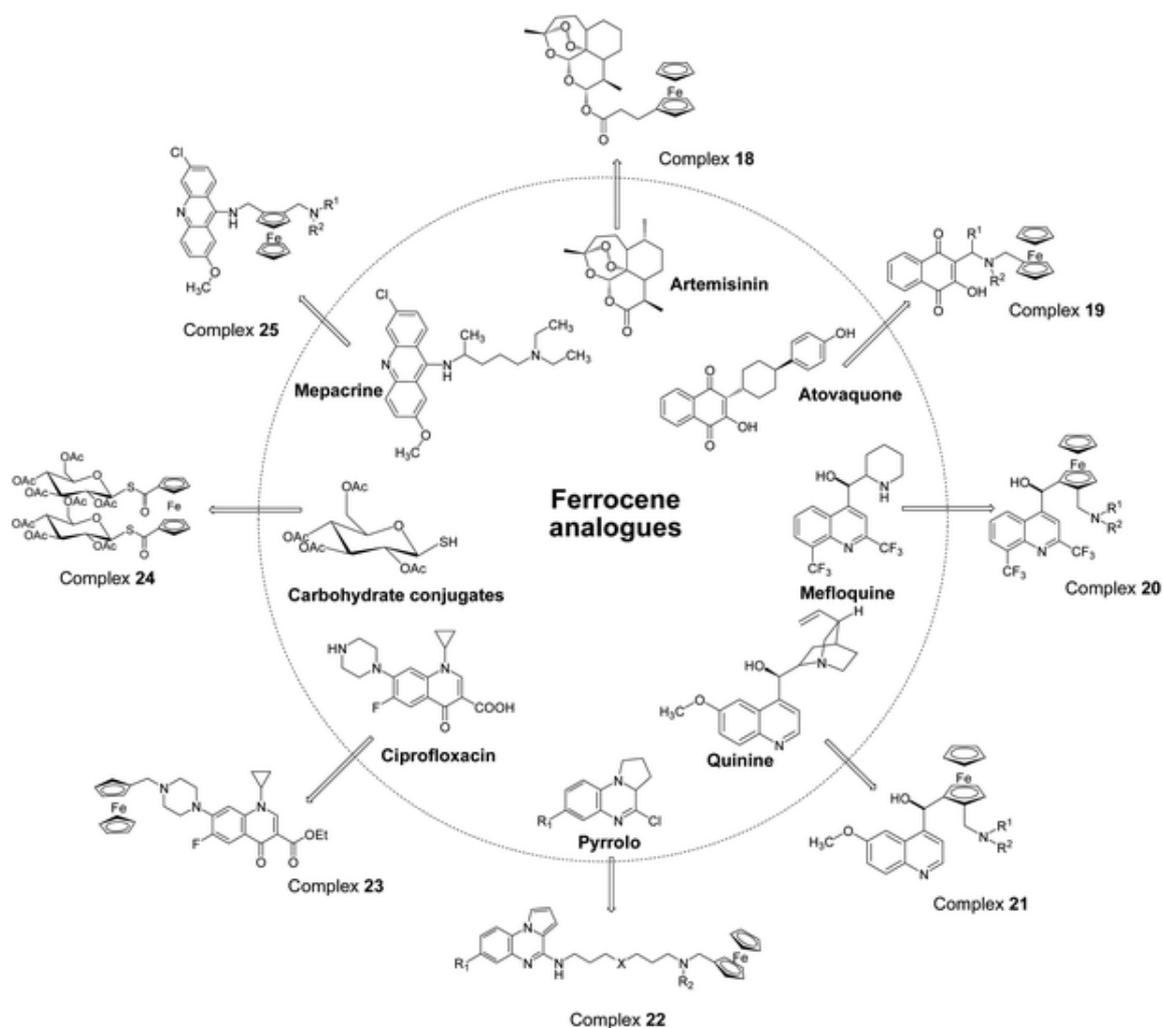
dovuta alla presenza, nei ceppi resistenti, di specifiche proteine che trasportano la CQ fuori dal vacuolo digestivo.

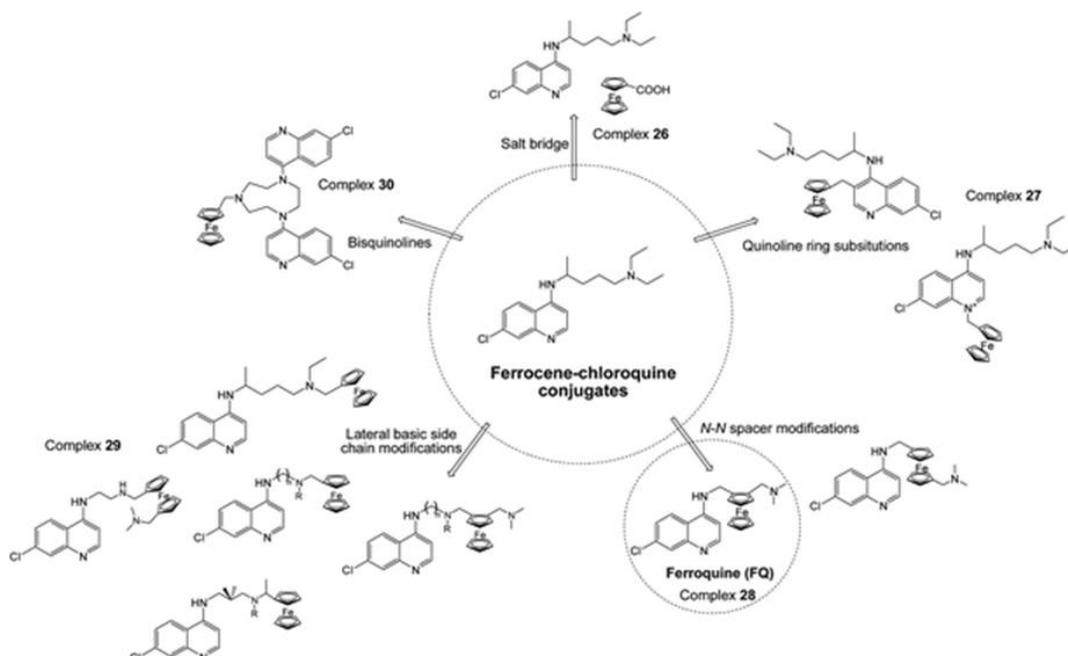
Da numerosi anni si è provato a modificare con dei metalli i farmaci anti-malarici amino-chinolinici nel tentativo di migliorarne l'attività e vincere la resistenza. Sono stati usati sostanzialmente due approcci. In uno, il frammento chinolinico è stato usato come legante, sfruttando per la



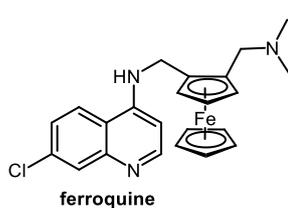
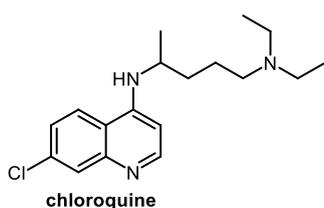
coordinazione l'azoto chinolinico o altri eteroatomi inseriti nella struttura della molecola. Alcuni fra i numerosi complessi di Ru(II), Au(I), Au(III), Ir(III), Pt(II) investigati sono mostrati in figura. Nel caso dei complessi di Ru(II) è chiara l'analogia strutturale con i composti antitumorali *half-sandwich*. In

generale, dalle prove in vitro condotte, si può concludere che in molti dei complessi saggiati si sono avuti risultati buoni (anche se non eclatanti), anche verso ceppi resistenti, dimostrando sostanzialmente la validità dell'approccio. L'altra strada seguita è stata quella di preparare dei derivati con ferrocene (o, più in generale, metallocene) di composti antimalarici noti, dal chinino all'artemisina. È stata preparata una libreria di più di 150 derivati, alcuni dei quali sono mostrati nelle figure.



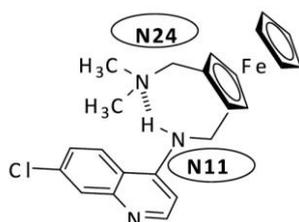


L'attività antimalarica di ciascun derivato organometallico è stata saggiata in vitro in confronto a quella del corrispondente composto di partenza, ottenendo buoni risultati soltanto in pochi casi (e.g. ciprofloxacina). Tuttavia, risultati eclatanti sono stati ottenuti introducendo un ferrocene nella catena laterale della cloroquina. Il composto, ribattezzato **ferrochina** (*ferroquine*, FQ) si è rivelato



ugualmente attivo verso i ceppi di *plasmodium falciparum* CQ-sensibili che verso quelli CQ-resistenti, dove è anche più attivo della cloroquina. Il meccanismo d'azione della FQ è stato molto studiato e si ritiene che sia di tipo **multimodale**, per certi versi simile alla CQ e per

altri diverso. In questo studio si è rivelato molto utile il corrispondente derivato con il rutenocene (**RQ**), strutturalmente del tutto simile e che differisce sostanzialmente solo per le proprietà redox del centro metallico. Si è visto che l'azione della FQ è dovuta alla sua localizzazione nel vacuolo digestivo del parassita, come la CQ. A causa della maggiore lipofilicità conferita dal ferrocene, FQ si accumula di più rispetto a CQ. Si ritiene che a questo fine sia importante anche il forte legame a idrogeno intramolecolare che si stabilisce fra i due gruppi aminici (figura), che mantiene la molecola più compatta e meno protonata della CQ a pH fisiologico, rendendo più facile l'attraversamento della membrana del vacuolo digestivo. Nel vacuolo, dove il pH è più basso, il



legame si rompe, i gruppi aminici vengono protonati e la molecola viene "intrappolata" all'interno. Da notare che la formazione del legame idrogeno si può avere solo se il ferrocene è inserito nella catena laterale della CQ e dipende dalla sua posizione. In questo senso il corrispondente RQ si comporta allo stesso modo. L'attività di FQ verso i ceppi resistenti è dovuta al fatto che la molecola non interagisce con la proteina che trasporta fuori CQ, e quindi rimane all'interno del vacuolo digestivo.

L'altro meccanismo, esclusivo di FQ, prevede la possibilità che nelle condizioni acide all'interno del vacuolo digestivo il ferrocene si potrebbe ossidare al catione ferricinio il quale, se fosse presente H_2O_2 , potrebbe generare radicali idrossile. In effetti, è stato dimostrato che FQ, ma non RQ, genera radicali $OH\cdot$ in presenza di perossido di idrogeno. Tuttavia, nei test in vitro, l'attività di FQ e RQ è del tutto simile, indicando che la generazione di ROS ha ben poca influenza sull'attività antimalarica. D'altra parte, in vivo le condizioni potrebbero essere diverse e la risposta dell'ospite all'infezione potrebbe portare a condizioni di maggiore stress ossidativo (che in vitro non ci sono). In accordo con tale ipotesi, prove condotte in vivo su roditori infettati hanno mostrato che FQ è

risultata curativa alla dose di 8 mg/kd/d per 4 giorni, mentre la RQ, alla stessa dose, non è stata curativa. La formazione di radicali $\text{OH}\cdot$ nel vacuolo digestivo di cellule infette e trattate con FQ è stata confermata tramite probe fluorescenti. In quelle trattate con CQ si è osservata addirittura una diminuzione dei radicali, confermando la differenza di meccanismo. Si è anche evidenziato che la membrana del vacuolo risulta danneggiata dai radicali (che ossidano gli acidi grassi che la compongono) nelle cellule trattate con FQ, ma non in quelle trattate con RQ (che non è in grado di generare radicali). Oltre a danneggiare la membrana del vacuolo, ci sono evidenze sperimentali che suggeriscono che la generazione di radicali idrossile fa diminuire – soprattutto nelle cellule resistenti – la concentrazione di glutatione nel vacuolo, che è un agente protettivo contro lo stress ossidativo. L'ipotesi di meccanismo multiplo della FQ è riassunta nella figura.

Finora (2014) la ferrochina ha superato uno studio clinico di fase I e uno di fase II in combinazione con altri antimalarici, senza manifestare effetti di tossicità critici, e da anni si parla dell'imminenza di uno studio clinico di fase III.

Sulla base del successo della ferrochina, sono stati preparati e saggiati numerosi altri derivati organometallici della CQ, ad esempio con i frammenti $[\text{CpRe}(\text{I})(\text{CO})_3]$ e $[(\text{C}_6\text{H}_6)\text{Cr}(\text{CO})_3]$. Il derivato col renio-tricarbonile è meno attivo della ferrochina, forse perché ha proprietà elettrone-accettrici al contrario del ferrocene che è elettrone-donatore, mentre quelle col cromo ha una buona attività anche verso i ceppi resistenti.

