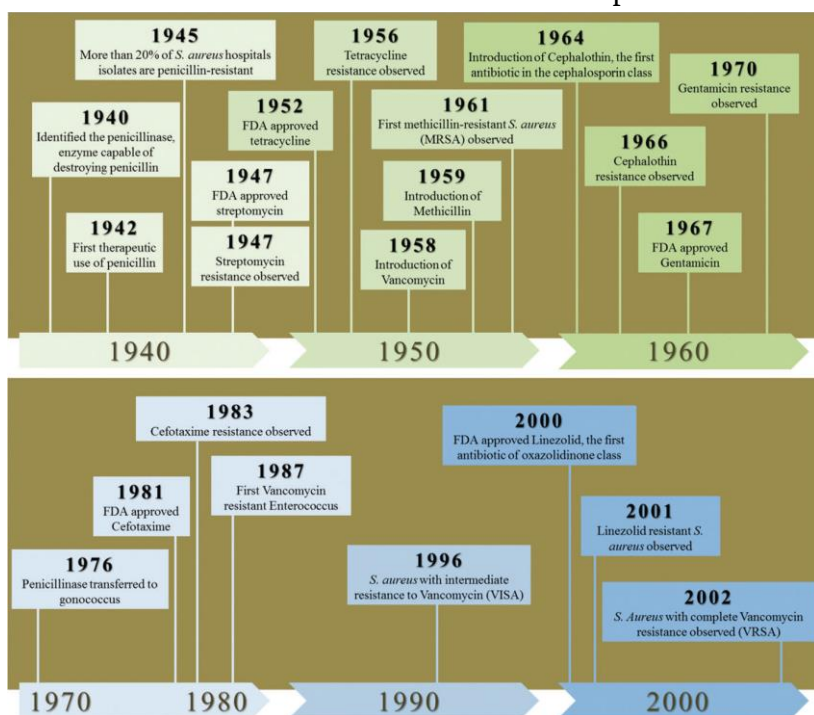


Antibatterici

È ben assodato che dalla loro scoperta gli antibiotici (o antibatterici, antimicrobici) hanno salvato milioni di vite umane e contribuito enormemente al prolungamento dell'attesa di vita. Tuttavia, nel tempo i batteri hanno sviluppato numerosi **meccanismi di resistenza agli antibiotici**, rendendo il trattamento delle infezioni spesso molto difficile. Ad esempio, la penicillina venne introdotta nei primi anni 1940 per il trattamento delle infezioni da *Staphylococcus aureus*, e i primi ceppi di questo batterio penicillina-resistenti vennero identificati già nel 1942. La figura mostra l'evoluzione temporale dell'approvazione di importanti antibiotici e l'insorgenza di resistenza. In media, si osserva resistenza a un nuovo antibiotico dopo 1–3 anni dalla sua introduzione in uso clinico.



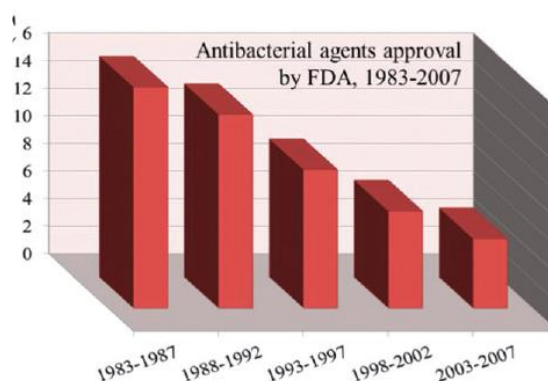
Particolarmente temibili sono le infezioni causate dallo stafilococco **MRSA**, *methicillin-resistant S. Aureus*, un batterio che è diventato progressivamente resistente prima alla meticillina, e poi anche ad altri antibiotici come gentamicina, eritromicina e neomicina, e più recentemente alla ciprofloxacina e – negli anni 2000 – anche alla vancomicina (VRSA). D'altra parte, le grandi industrie farmaceutiche non sono particolarmente impegnate nella ricerca e sviluppo di nuovi antibiotici in quanto questi farmaci non garantiscono un buon profitto a lungo termine rispetto a farmaci per il trattamento di malattie croniche, che richiedono terapie

molto lunghe. Lo sviluppo di nuovi antibiotici è molto costoso (ca. 1 miliardo di \$ per portare sul mercato un nuovo farmaco), gli investimenti sono rischiosi e a lungo termine (almeno 10 anni), e infine è probabile che i nuovi prodotti abbiano un “tempo di vita” piuttosto breve a causa dell'insorgere di resistenza. Questo si riflette direttamente nella progressiva diminuzione di nuovi antibiotici introdotti in uso clinico (figura). Quindi, senza considerare i costi delle malattie infettive, a causa del continuo e drammatico aumento dei ceppi batterici resistenti agli antibiotici e della concomitante diminuzione di nuovi antibiotici, il problema delle infezioni batteriche intrattabili è destinato a crescere nel prossimo futuro. Si stima addirittura che nel 2050 a livello mondiale le morti da infezione batterica – dovute soltanto a ceppi di batteri resistenti – arriveranno a 50 milioni all'anno (vs 8.8 milioni dovute al cancro).

In questa lotta i metalli possono svolgere un ruolo importante, e fra essi soprattutto l'argento.

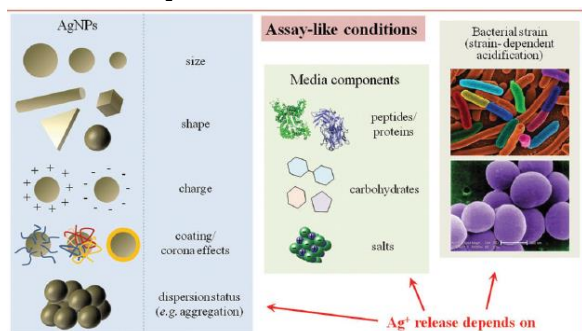
Argento

L'uso dell'argento metallico come antibatterico risale ai tempi antichi (e.g. conservazione dei cibi). Da lungo tempo sali di Ag vengono anche usati per trattare le infezioni da ustioni. Nel secolo scorso l'uso di soluzioni di AgNO_3 per trattare infezioni oculari era molto comune, e addirittura gocce di soluzione diluita di AgNO_3 erano messe negli occhi di neonati nati da madri affette da malattie veneree per prevenire infezioni. Ampiamente utilizzato fino verso la metà del secolo scorso,



essere ampiamente modulate in base alle loro dimensioni, forma e proprietà superficiali.

Oggigiorno, oltre ad essere utilizzate in campo biomedico (e.g. per la copertura, tramite polimeri impregnati di NP, di varia strumentazione, come cateteri venosi e urinari, bendaggi, strumenti chirurgici, aghi, impianti ossei e dentali,...) AgNP o altri nanocompositi di argento (e.g. colloidi di AgCl) sono utilizzati in molti prodotti commerciali come agenti antibatterici, da capi d'abbigliamento (soprattutto sportivi) a cosmetici, deodoranti, contraccettivi e persino giocattoli. Sono addirittura in commercio generatori domestici di soluzioni acquose di Ag colloidale per assunzione quotidiana. È notevole il fatto che anche altri metalli nobili, in particolare oro e platino,



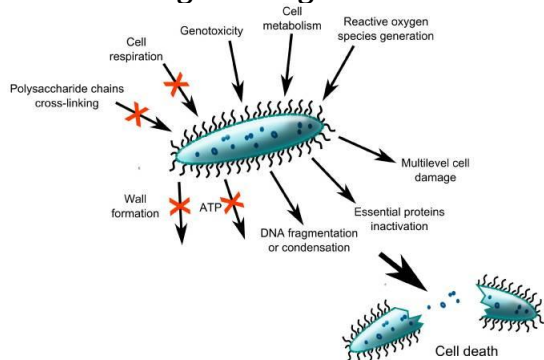
vengano aggiunti ai cosmetici nonostante il fatto che non abbiano effetti biologici comprovati.

È ormai appurato che le AgNP non hanno effetto antibatterico in quanto tali: esse rilasciano lentamente ioni argento per ossidazione e le cinetiche di rilascio dipendono da molteplici fattori (figura): dalle dimensioni, dalla loro forma (che influenza molto l'area superficiale), dalla funzionalizzazione della loro superficie, dalla temperatura e dalla composizione del *medium* in cui

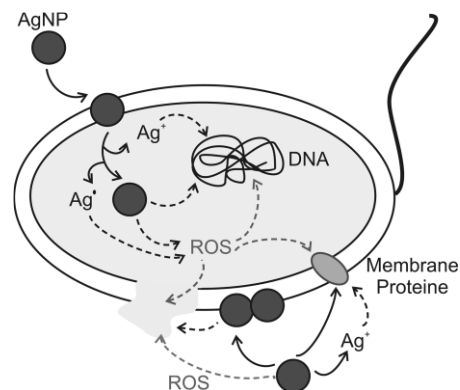
si trovano, dal pH (e quindi anche dal tipo di batterio). In assenza di ossigeno molecolare disciolto, il rilascio di ioni è praticamente nullo. In accordo con questo dato, si è visto che in assenza di ossigeno le AgNP non hanno alcuna attività antibatterica contro *E. coli* fino a concentrazioni di 200 mg L⁻¹, mentre normalmente le concentrazioni tossiche di sali d'argento sono in un intervallo tra 0.1 e 20 mg L⁻¹, a seconda del microorganismo. Ad esempio, la **MIC** (*minimal inhibitory concentration*) di AgNO₃ verso ceppi sensibili di *E. coli* è 3 μM, pari a 323 μg L⁻¹. Da tenere presente infine che, in ambiente biologico, le AgNP, come tutte le NP, vengono rapidamente ricoperte da uno strato di proteine ("corona"), che andrà ad influenzare le interazioni con le cellule.

Tra i potenziali vantaggi delle AgNP rispetto ai sali, vale la pena sottolinearne due: i) le NP possono venire internalizzate più facilmente dai microorganismi per endocitosi rispetto agli ioni, e quindi possono anche raggiungere compartimenti cellulari che possono essere preclusi agli ioni; ii) le superfici delle NP sono funzionalizzabili con *targeting vectors*, per un eventuale utilizzo sistemico.

Azione biologica di Ag⁺



I moltissimi studi effettuati per determinare la causa dell'azione antibatterica dello ione argento hanno portato alla conclusione che non è possibile stabilire con esattezza l'origine della sua azione tossica in quanto esso può interferire con i processi biologici in svariati modi. Il catione Ag⁺, d¹⁰, è un acido di Lewis *soft* e ha buona affinità per lo zolfo ma anche per l'azoto, quindi ha molte possibilità di interferire con i processi biologici. Preferisce numeri di coordinazione bassi, con leganti



monodentati tipicamente tra 2, con geometria lineare, e 4 con geometria tetraedrica. *In vivo*, oltre a poter formare sali poco solubili (AgCl, Ag₂S), gli ioni argento possono dare una serie di interazioni. In base a numerosi studi è stato proposto un **meccanismo di azione multiplo** che comprende: danneggiamento della membrana cellulare, produzione di ROS, danneggiamento di RNA e DNA, interazione con proteine e alterazione di processi enzimatici, alterazione della respirazione cellulare (figura). La figura successiva riassume schematicamente queste opzioni, ipotizzando che la fonte di

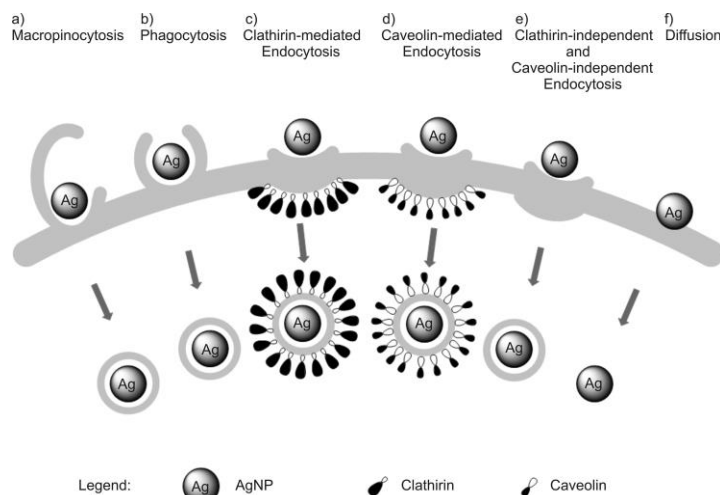
ioni argento siano delle AgNP. Da sottolineare che la multi-direzionalità dell'azione antibatterica dell'argento rappresenta il suo maggiore vantaggio rispetto ai convenzionali antibiotici, perché dovrebbe garantire una maggior difficoltà all'insorgere di resistenza.

Per quanto riguarda i danni alla membrana cellulare, da immagini TEM si è visto che gli ioni Ag^+ inducono variazioni morfologiche e veri e propri buchi nella membrana. Un comportamento simile è stato visto con le AgNP, anche se in questo caso i dati sono piuttosto controversi e sembrano dipendere dal *coating*, e quindi dalla carica superficiale, delle NP. Inoltre c'è chi sostiene che in realtà anche nel caso delle NP il danno alla membrana cellulare sia dovuto agli ioni argento rilasciati. Sia gli ioni argento che le NP riescono comunque a penetrare nelle cellule batteriche. Le NP possono venire internalizzate per diffusione passiva o tramite meccanismi attivi di endocitosi (figura). Questi vari processi sembrano dipendere da dimensioni e forma delle NP.

Come già detto, all'interno della cellula lo ione argento può dare numerose interazioni che contribuiscono alla sua azione. Per quanto riguarda l'interazione col DNA, sembra che i siti di *binding* preferiti per Ag^+ siano gli stessi del platino, cioè l'azoto N7 di guanina e adenina. Per quanto riguarda le interazioni con enzimi e proteine, si può legare soprattutto con cisteina, istidina e arginina. È plausibile che Ag^+ sostituisca ioni endogeni, soprattutto Cu(I), in metallo-enzimi, alterandone il funzionamento. Si è anche visto che Ag^+ è in grado di distruggere i cluster Fe-S “sottraendo” solfuro e cisteine. Per quanto riguarda la diminuita respirazione cellulare, è stato dimostrato che la presenza di ioni argento (o AgNP) inibisce in modo dose-dipendente l'attività enzimatica della NADH-deidrogenasi della catena respiratoria. Infine, il ruolo dei ROS (e la loro origine) nel meccanismo d'azione antibatterico dell'argento, in tutte le sue forme, è molto controverso, andando da chi sostiene che i ROS sono i maggiori responsabili dell'attività antimicrobica a chi sostiene l'opposto.

L'esteso utilizzo dell'argento come antibiotico (per uso topico) implica che la sua tossicità verso gli organismi superiori, e l'uomo in particolare, sia limitata. L'argento è infatti meglio tollerato dal nostro organismo rispetto alla maggior parte degli altri metalli pesanti ed è di solito ritenuto relativamente poco tossico nei confronti delle cellule di mammifero. Nei topi la LD_{50} per sali solubili di argento è dell'ordine di $50\text{--}100\text{ mg kg}^{-1}$ e 140 mg kg^{-1} per l'uomo. Per l'uomo si stima che una concentrazione massima di ioni Ag^+ nell'acqua potabile di 0.1 mg L^{-1} , che equivale all'assunzione di 10 g di argento nel corso della vita, sia innocua. L'assunzione di dosi elevate di argento porta a una patologia nota come **argiria**, che comporta l'incorporazione di argento nella pelle e in altri tessuti sotto forma di Ag_2S o altri solfuri bio-organici (che è un modo efficiente di detossificazione).

Perché l'argento non esercita lo stesso effetto citotossico sulle cellule eucariote come su quelle batteriche? Le cellule eucariote sono di solito più grandi e possiedono una maggiore ridondanza strutturale e funzionale rispetto a quelle procariote, e quindi sono necessarie concentrazioni di Ag^+ più alte per raggiungere effetti tossici confrontabili a quelli sui batteri. Questa differenza fornisce la cosiddetta **finestra terapeutica**, al cui interno le cellule batteriche vengono attaccate con successo mentre non si osservano ancora effetti sulle cellule eucariote. Secondo alcuni ricercatori, tuttavia, l'effetto dell'argento verso i batteri viene generalmente sovrastimato, mentre viene sottostimato quello verso le cellule. In altre parole, sembra che la finestra terapeutica di questo antibiotico sia meno ampia di quanto si ritiene normalmente. Tuttavia, bisogna tenere presente che i test di citotossicità *in vitro* da soli non sono molto predittivi per quanto riguarda la tossicità *in vivo*, ed è

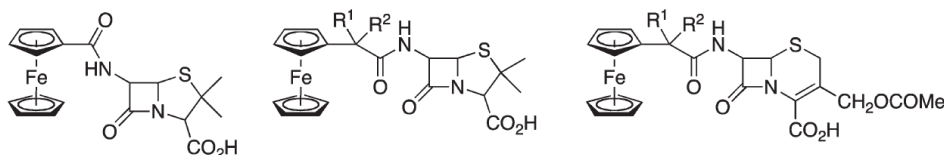


sempre estremamente importante definire a quale tipo di argento ci si riferisce. Ad esempio, alcuni nanomateriali hanno presentato notevole citotossicità verso cellule di mammifero, anche se sono biochimicamente inerti e biocompatibili in forma massiva (*bulk*). Nel caso delle nanoparticelle poi non è possibile stabilire con precisione, in base ai dati molto eterogenei presenti in letteratura, se le AgNP come tali abbiano tossicità. Tuttavia, alcuni studi indicano che, a parità di quantità totale di argento, le AgNP più piccole hanno maggiore tossicità di quelle più grandi o delle micro-particelle. Come per gli altri antibiotici, c'è naturalmente la preoccupazione che i batteri possano sviluppare resistenza all'argento. Gli esperimenti condotti finora indicano che l'insorgenza di resistenza non è senz'altro un processo veloce, molto probabilmente a causa del meccanismo d'azione multiplo dell'argento. Inoltre, bisogna considerare che mentre è possibile prevedere che i batteri possano sviluppare dei meccanismi protettivi contro gli ioni argento internalizzati (e.g., come nelle cellule eucariote, potrebbero venire sequestrati da proteine tipo metallotioneine o precipitati come sali insolubili e accumulati, o pompati all'esterno: alcuni batteri possiedono questi tipi di meccanismo), è più difficile prevedere che essi possano sviluppare meccanismi protettivi per evitare i danni causati alla membrana cellulare.

Altre strategie per lo sviluppo di nuovi antibatterici

Oltre all'argento, la chimica inorganica sta seguendo anche altre strategie per sviluppare nuovi antibiotici. Una di queste è quella di derivatizzare antibiotici noti con frammenti organometallici stabili. Questa strategia potrebbe consentire di sviluppare composti che abbiano un nuovo modo di azione che dipende dal metallo, magari in aggiunta a quello dell'antibiotico tal quale, non accessibile alle molecole puramente organiche, superando i meccanismi della resistenza. Un tipico esempio in questo senso è il farmaco antimalarico *ferrochina*. Il tipo di modifica "inusuale" potrebbe anche allungare i tempi necessari ai batteri per sviluppare nuova resistenza. In generale, è più difficile per i microorganismi sviluppare resistenza nei confronti di farmaci che abbiano modi di azione – e bersagli – multipli (vedi caso dell'argento!).

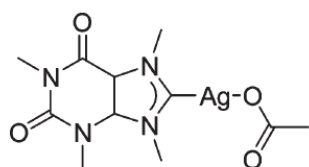
Per esempio, sono stati sintetizzati col principio della sostituzione bioisosterica derivati ferrocenilici



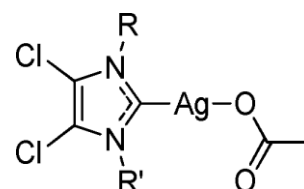
di noti antibatterici, come penicilline e cefalosporine nei quali anelli fenilici in posizione prominente

sono stati sostituiti con ferrocene (figura), ma nessuno dei nuovi derivati ferrocenilici possiede l'attività del composto di partenza. Tuttavia, non è noto se essi sono attivi sui ceppi batterici resistenti alla penicillina.

Un'altra strategia è quella di sviluppare complessi di Ag(I) che siano in grado di rilasciare lentamente lo ione Ag^+ . In particolare c'è molto interesse sull'utilizzo di **carbeni N-eterociclici**, **NHC** (*N-heterocyclic carbenes*), come leganti *carrier* per lo ione Ag^+ . I carbeni NHC sono dei



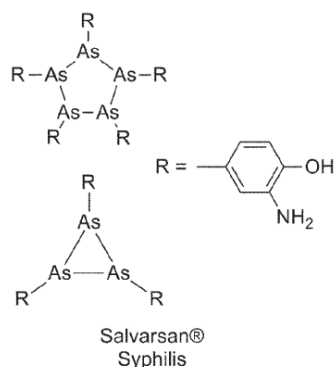
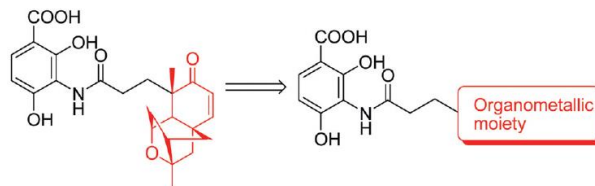
leganti organometallici (neutri) molto forti per l'argento e sostanzialmente, data la buona stabilità, garantiscono un rilascio lento dello ione Ag^+ . Un esempio rappresentativo di questa classe di composti è il *Silvamist*, un derivato Ag–NHC della caffeina (figura) che



possiede un'ottima attività antibatterica contro ceppi di batteri resistenti ai comuni antibiotici, compresa la tobramicina, sia *in vitro* che somministrato ai topi come aerosol. Sostituendo la caffeina con il 4,5-dicloroimidazolo (figura) è stata preparata una libreria di composti carbenici variando la natura dei sostituenti sugli atomi di azoto. In genere i composti sono più stabili del Silvamist in soluzione acquosa, e *in vitro* hanno valori micromolari di MIC anche contro ceppi batterici molto aggressivi tipo MRSA. Tuttavia alcuni di essi sono anche citotossici verso le cellule di mammifero alle stesse concentrazioni.

L'eventuale uso sistemico di questi composti, anche se solubili e stabili in soluzione acquosa, è impedito da numerosi fattori, primo fra tutti l'elevata concentrazione di cloruro presente nel sangue, che farebbe precipitare l'argento come AgCl , accelerando la degradazione dei complessi e riducendone l'efficacia. Inoltre l'argento potrebbe legarsi a vari siti delle proteine, come nei batteri. Per ovviare a questi limiti si sta cercando di incapsulare i composti in nanoparticelle di polimeri biodegradabili che potrebbero consentire al composto di raggiungere il sito dell'infezione senza subire (troppa) degradazione.

Un ultimo approccio che vale la pena menzionare è quello con uno degli antibiotici più recenti, la **platensimicina**, che riesce a uccidere patogeni come MRSA con valori di MIC di $0.5\text{--}2\ \mu\text{g mL}^{-1}$, inibendo selettivamente un enzima coinvolto nella biosintesi degli acidi grassi dei batteri. La struttura ai raggi X inibitore-enzima mostra che la parte polare della molecola con l'acido benzoico è infilata nel sito di legame del substrato, l'acido malonico, mentre la parte tetraciclica lipofila risiede all'ingresso della tasca enzimatica. Con un approccio simile a quello illustrato per gli inibitori delle proteinchinasi si è cercato di sostituire questa parte della molecola organica, piuttosto complicata da derivatizzare, con dei frammenti organometallici (figura). Tuttavia, nessuno dei vari

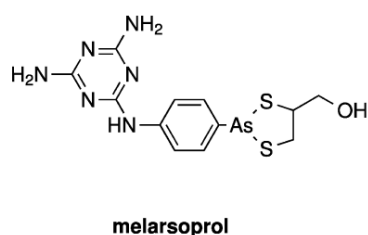


derivati sintetizzati possiede attività antibatterica paragonabile alla platensimicina.

Ricordiamo, a conclusione di questo capitolo sugli antibatterici, che uno dei primi antibiotici in assoluto fu un composto inorganico a base di arsenico, il **Salvarsan**, introdotto da Paul Erlich nel 1912 per il trattamento della sifilide, che in quegli anni era una patologia grave e spesso mortale. Nonostante i notevoli effetti collaterali, questo composto venne usato fino agli anni 1940, quando venne soppiantato dalla penicillina. È interessante che la vera struttura del farmaco, una miscela di composti ciclici a 3 e 5 membri, venne determinata solo nel 2005.

Altri composti metallici antibatterici e antiparassitari (antimonio, bismuto, mercurio)

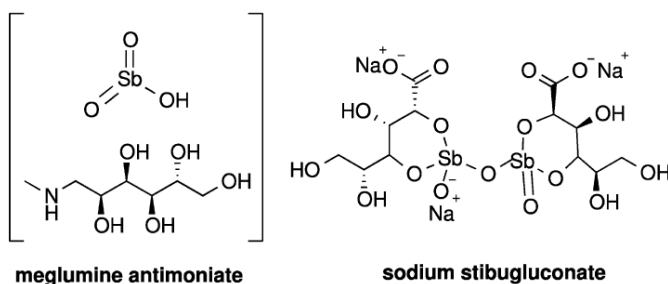
L'uso di composti a base di arsenico (vedi Salvarsan) era molto diffuso all'inizio del 1900 per il trattamento di varie malattie, soprattutto infezioni batteriche e parassitarie, prima della scoperta di



farmaci meno tossici (prima fra tutti la penicillina e poi gli altri antibiotici). Un composto a base di arsenico scoperto solo nel 1949 e ancora utilizzato oggi contro la **tripanosomiasi**, nonostante i suoi notevoli effetti collaterali a livello di encefalopatia (In circa il 10% dei pazienti trattati con melarsoprol si sviluppa un'encefalopatia emorragica reattiva, con gravi lesioni residue; approssimativamente nel 5% dei casi, il Melarsoprol è letale di per sé), è il **melarsoprol**

(figura), che viene utilizzato come trattamento di seconda linea contro entrambe le forme della malattia del sonno (*human African sleeping sickness*). La sua efficacia terapeutica si basa sulla capacità del farmaco di inibire enzimi parassitari essenziali per il metabolismo dei carboidrati.

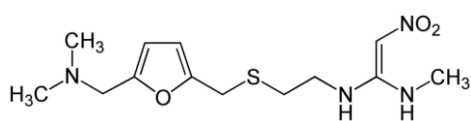
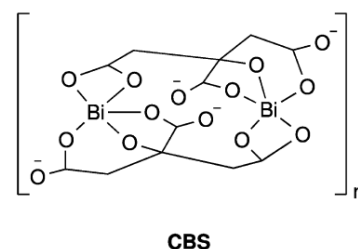
Anche composti a base di antimonio e bismuto sono stati ampiamente usati come antibatterici e antiparassitari. Fra i vari farmaci a base di **antimonio** usati in passato sono ancora in uso due



composti di Sb^V , il **sodio stibogluconato** (Pentostam) e l'**antimoniato di meglumina** (Glucantime, un farmaco veterinario, la meglumina è un ammino-zucchero, figura) nel trattamento della **leishmaniosi**, una malattia causata da un parassita, un protozoo, che viene trasmesso dal morso di

insetti, tra cui le zecche (nonostante la loro tossicità e l'aumento di resistenza del parassita all'antimonio). Forme gravi di questa malattia comportano anemia e danni a fegato e milza che possono essere fatali. Il preciso meccanismo di azione di questi composti di Sb^{V} , che sono utilizzati da più di 60 anni, non è ancora chiaro. Nel parassita Sb^{V} viene ridotto rapidamente a Sb^{III} , che si ritiene sia la forma attiva e che vada a bloccare l'attività dell'enzima tripanotione riduttasi (TR, dove il tripanotione è una sorta di 'doppio glutatione', formato da due molecole di glutatione unite tramite una molecola di spermidina). TR è essenziale per la sopravvivenza del parassita e per la sua virulenza ed è assente nelle cellule di mammifero. In una recente struttura ai raggi X, si vede che Sb^{III} si coordina nel sito attivo dell'enzima a due cisteine, una treonina ed una istidina. Si prevede che in futuro, per migliorare l'efficacia degli agenti antiparassitari basati su composti di Sb^{V} sarà importante riuscire ad avere un controllo sullo stadio di attivazione-per-riduzione del Sb^{V} a Sb^{III} .

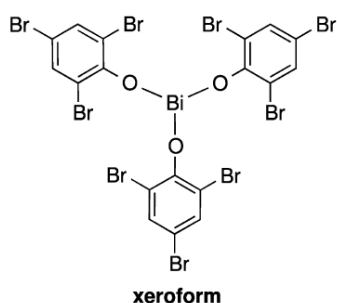
Al contrario di arsenico e antimonio, i composti di Bi hanno scarsa tossicità verso le cellule di mammifero (probabilmente a causa della protezione fornita dalle metallotioneine, ricche di tioli). Il bismuto è considerato un metalloide e *in vivo* esiste tipicamente come Bi^{III} , che ha numeri di coordinazione variabili (3–10) con geometrie irregolari. Numerosi composti di Bi, come il **bismuto subcitrato colloidale** (CBS, figura), il **bismuto-ranitidina citrato** (in figura la molecola di ranitidina, un antagonista dei recettori per l'istamina, la molecola che regola le secrezioni gastriche; questa formulazione è stata ritirata dal mercato USA nel 1998), il **bismuto subsalicilato** (*Pepto-Bismol*) e l'**ammonio-potassio citrato di Bi^{III}** (*De-NolTM*) vengono usati, spesso in terapia combinata con altri antibiotici (clatrinomicina,



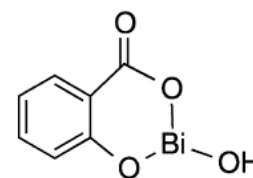
amoxicillina), per il trattamento di disordini gastrointestinali dovuti a infezioni del batterio *Helicobacter pylori*. Questo batterio causa l'infiammazione della mucosa che ricopre la parete dello stomaco e porta a gastriti, ulcere duodenali e

gastriche, e anche cancro all'apparato gastrico.

Il principale target biologico del Bi^{III} sono le proteine dei batteri, dove il Bi^{III} si può legare ai siti di coordinazione sia del Fe^{III} che dello Zn^{II} . In particolare si ritiene che inibisca la nichel-proteina ureasi e che si leghi ai domini ricchi di istidine e di cisteine della cosiddetta *heat-shock protein A*, entrambe cruciali per la sopravvivenza del batterio *H. pylori* nell'intestino. I sali di bismuto mostrano anche attività contro numerosi altri patogeni del tratto gastrointestinale, tra cui *Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, *Campylobacter jejuni* e quelli dei generi *Yersinia*, *Salmonella* e *Shigella*. Oltre all'attività antibatterica mostrata dallo ione Bi^{III} , i suoi derivati che si formano nell'ambiente fortemente acido dello stomaco si legano fortemente alle proteine nel tessuto ulcerato, formando uno strato protettivo che facilita la sua guarigione.



Da notare che composti come il *Pepto-Bismol*, (figura) introdotto nel 1901, vengono ancora oggi ampiamente usati in tutto il mondo come auto-medicazione contro indigestione, bruciori di stomaco, nausea e diarrea. Nonostante ciò, la sua esatta struttura chimica e il meccanismo d'azione non sono ancora del tutto noti.

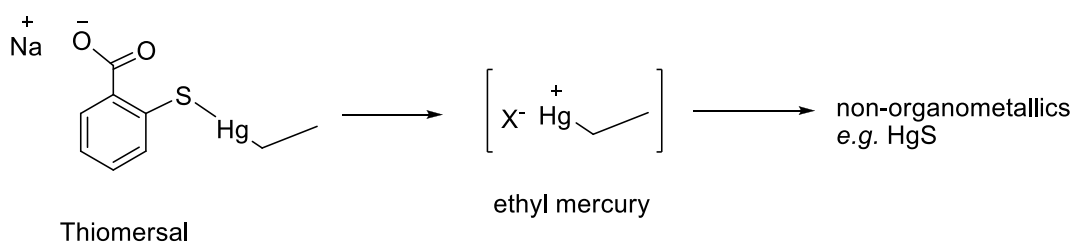


Il bismuto(III)-tribromofenato, **xeroform** (figura), ha proprietà antibatteriche e viene ancora usato per uso esterno come sostituto dello iodoformio per il trattamento di ferite. Un gel contenente composti di

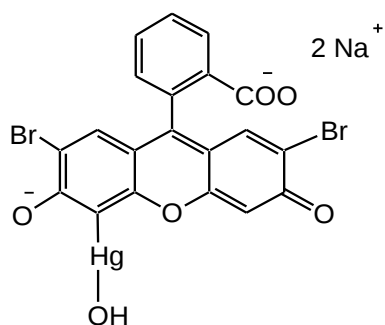
$\text{Bi}(\text{III})$ e ditioetano, **BisEDT**, è in fase clinica per il trattamento e la prevenzione di infezioni ortopediche postchirurgiche. Si ritiene che riesca a prevenire la formazione del biofilm di batteri che, se ricopre gli impianti ortopedici, può sviluppare infezione e causare il rigetto. Viene anche utilizzato per il trattamento di ferite croniche, come le ulcere ai piedi in pazienti diabetici.

Le proprietà antibatteriche e antifungine dei composti organometallici di **mercurio** ne hanno promosso l'uso come disinfettanti ad uso topico (thiomersal e merbromin), conservanti nei vaccini (thiomersal) e nei cereali (composti di metil ed etil-mercurio). Come nel caso dell'argento, si ritiene che l'attività antibatterica del mercurio derivi principalmente, ma non esclusivamente, dalla forte affinità del metallo per i gruppi tiolici delle proteine. Vi è evidenza sperimentale che suggerisce che i composti di mercurio causino cambiamenti strutturali e funzionali alle pareti cellulari dei batteri e inibiscano proteine di membrana, interferendo con la respirazione, la sintesi dell'ATP e con i processi di trasporto. Lo sviluppo di resistenza da parte dei batteri agli agenti antimicrobici mercuriali comporta l'induzione di enzimi (come la mercurio-riduttasi) che sono in grado di convertire Hg(II) nel citoplasma al meno tossico e più volatile Hg metallico. Il cloruro mercurioso (calomelano, Cl-Hg(I)-Hg(I)-Cl) è stato usato per secoli come diuretico, lassativo, antisettico, e per trattare la vitiligine, ma il suo uso è stato largamente soppiantato dalla medicina moderna. Nella medicina tradizionale cinese il cinabro (il minerale che contiene HgS) viene usato con effetti sedativi e ipnotici.

La elevata neurotossicità dei composti di organo-mercurio (in particolare del metil-mercurio) è stata la causa di numerosi gravi incidenti (Iraq e Cina negli anni 1970, la Baia di Minamata in Giappone negli anni 1950 e 1960). In natura il metilmercurio viene generato per metilazione di sali di mercurio da parte di microorganismi in ambiente acquatico e la sua bio-accumulazione lungo la catena alimentare è ben nota da lungo tempo. Uno studio tossicologico americano ha mostrato che il livello medio di mercurio nel tonno in scatola è di $0.407 \mu\text{g/g}$ di tonno. Nel corpo umano il metilmercurio viene tipicamente ritrovato legato allo zolfo di leganti tiolati e penetra nelle cellule endoteliali della barriera emato-encefalica complessato con L-cisteina. Il meccanismo attraverso il quale il metilmercurio danneggia il cervello non è ancora chiaro, ma sembra riguardare l'inibizione della sintesi proteica, con danni specifici alle cellule granulari del cerebello che non possiedono meccanismi protettivi tipici di altre cellule in comparti adiacenti. I composti organo-mercuriali sono tuttora utilizzati su larga scala. Il **thiomersal** (sodio 2- etilmercurio-tiobenzoato, figura) era contenuto nei vaccini Pandemrix e Arepanrix contro la influenza suina pandemica del 2010 prodotti dalla GlaxoSmithKline come conservante (viene definito *vaccine adjuvant*).



Le molte applicazioni del mercurio, in considerazione della sua elevata tossicità sono state oggetto di dibattito per anni, culminando nel 2013 con un trattato (*Minamata Convention on Mercury*) proposto dalla World Health Organisation (WHO) per limitarne l'uso. Tuttavia dal trattato sono escluse applicazioni dove al momento non ci sono alternative "*mercury-free*", come appunto nei vaccini. Nel Pandemrix, il thiomersal era presente a una dose di $5 \mu\text{g}/0.5 \text{ ml}$, cioè ampiamente entro



il limite massimo raccomandato dalla WHO per il simile – ma più tossico – composto organometallico metilmercurio ($1.6 \mu\text{g/kg}$ peso corporeo/settimana). Dopo essere stato iniettato, il thiomersal si dissocia rapidamente producendo etilmercurio, che si lega ai gruppi tiolici delle proteine inibendone l'attività enzimatica. Si ritiene che il **Merbromin** (anche noto come **Mercurochrome**) (figura) si comporti in modo analogo.

I profili tossicologici di etil- e metilmercurio sono leggermente diversi: l'etilmercurio è meno tossico per gli umani in quanto si decompone più rapidamente *in vivo* formando complessi inorganici

di mercurio. Inoltre l'etilmercurio si accumula meno del metilmercurio nel cervello.

Antivirali

Al momento nessun composto a base di metalli è stato approvato come farmaco antivirale, tuttavia il composto di cobalto(III) bis(2-methylimidazole)[(bis(acetylacetonate)(ethylenediimine)] (Doxovir, figura), ha completato con successo uno studio clinico di fase II per il trattamento dell'Herpes simplex labiale e uno studio di fase I per il trattamento di due infezioni virali oculari (cheratite erpetica oftalmica e congiuntivite da adenovirus). Studi in vitro hanno dimostrato che l'attività del composto nei confronti del virus *herpes simplex* di tipo 1 (HSV-1) deriva dal fatto che ne previene l'ingresso nelle cellule inibendo processi di fusione delle membrane di virus e cellula. Questo tipo di attività potrebbe essere correlata al fatto che complessi di Co(III)-(acacen) si legano covalentemente alle istidine del dominio degli *zinc-finger* (cioè le istidine normalmente legate appunto allo zinco), impedendo che la proteina si leghi alla sequenza di DNA che riconosce tipicamente.

