

Farmaci per malattie orfane: chemioterapia dell'idatidosi (**)

L'echinococcosi/idatidosi è stata classificata fra i primi problemi da parte del Centro Mediterraneo della Zoonosi dell'OMS [1]. In Italia si valuta che ogni anno 1000-1500 persone siano ricoverate in reparti chirurgici per l'asportazione delle cisti da echinococco: le regioni più interessate sono la Sardegna, la Sicilia, il Lazio, l'Abruzzo, la Toscana e la Puglia. La gravità del problema è stata presa in considerazione da alcuni organi regionali competenti i quali, ad es. in Sardegna, hanno reso obbligatorio nel 1980 il trattamento antelmintico periodico di tutti i cani, ospiti definitivi di questo parassita [2].

Il danno economico, negli animali da allevamento quali ovini, suini, equini e bovini — ospiti intermedi, come l'uomo — è di ca. 35 miliardi l'anno.

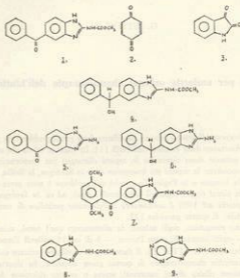
Il Mebendazolo (1.) [Tab. 1], il farmaco per eccellenza indicato dalla OMS per il trattamento chemioterapico di questa grave affezione, ha riportato nella sua applicazione clinica alcuni insuccessi, scarsa o assente riduzione delle cisti (la membrana germinale resta vitale), incostante affidabilità nelle profilassi delle recidive post-operatorie da disseminazione chirurgica per « resistenza » dei protoscolici [3]. La chemioterapia delle cisti idatidiche è pertanto ancora oggi riservata ai solo casi inoperabili di cisti multiple, disseminazione peritoneale, localizzazioni poco accessibili alla mano del chirurgo, nonché alle cisti da *Echinococcus multilocularis* fortunatamente non segnalate in Italia.

Sembra quindi che il limite terapeutico del trattamento con Mebendazolo, il farmaco più attivo nella terapia dell'idatidosi dell'uomo e degli animali e con gradiente di penetrazione nella cisti secondaria molto elevato [4], sia costituito dall'azione reversibile che il farmaco esercita sulla membrana prologena e dalla sua scarsa efficacia sui protoscolici che costituiscono le forme quiescenti di sopravvivenza cui è legata la capacità di rigenerazione e di rivivulenzamento del parassita.

(*) Laboratorio di Clinica del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma.

(**) Presentato al Convegno « Sanità Militare e Farmaci Orfani » (Firenze, 7 Ottobre 1989).

TAB. 1



Questo limite terapeutico è sicuramente dipendente dalla scarsa solubilità del Mebendazolo nell'acqua e nei liquidi biologici (<5 mg/100 ml) oltre che dalla biodisponibilità effettiva del farmaco: nell'uomo, i livelli plasmatici del Mebendazolo e dei suoi metaboliti sono generalmente bassi. Ad es., dopo una dose orale, per il trattamento di nematodi intestinali, di 200 mg/d × 3 d, i livelli plasmatici del farmaco non superano i 30 ng/ml di Mebendazolo e i 90 ng/ml dell'ammino derivato.

Invece, alte dosi di Mebendazolo per os (30-50 mg/kg di peso corporeo) ogni giorno × 20-90 d a roditori e pecore infettate con *Echinococcus granulosus* causano il danneggiamento o la distruzione della parete cistica, la perdita di liquido cistico e la morte dei protozoi [5].

L'azione esplicata dal Mebendazolo e dagli altri farmaci a struttura benzimidazolica consiste nell'inibire il sistema microtubulare delle cellule idatidee: in

vitro, a determinate concentrazioni (>20 µg/ml), l'apparato microtubulare viene depolimerizzato completamente [6].

Sulla base di quanto desunto dalla letteratura sono state quindi prese in considerazione alcune molecole note che, oltre a mostrare attività inibitrice del sistema microtubulare, presentassero una tossicità tollerabile per trattamenti a tempi medio-lunghi, un prevalente carattere lipofilo quale presupposto di una loro penetrazione all'interno della cisti e una sufficiente solubilità in mezzi acquosi. I composti saggiati *in vitro* su protoscolici vitali sono elencati in tabella, i più attivi *in vitro* sono risultati, oltre al Mebendazolo preso come composto di riferimento, il Benzochinone (2.) e l'Isatina (3.) [Tabella 2].

Le concentrazioni minime causanti la morte della totalità dei protoscolici sono state verificate per HPLC con rivelatore coulometrico a sensibilità almeno quintupla degli altri rivelatori elettrochimici amperometrici, a loro volta più sensibili dei comuni rivelatori U.V.

Questo metodo di determinazione è stato applicato sia alla soluzione nella quale erano sospesi i protoscolici, che a questi ultimi isolati, per avere almeno un'idea di quanto ciascun composto si fosse « fissato » sulle membrane esterne dei protoscolici.

Per quanto riguarda il Mebendazolo, i risultati sono riassunti nella Tab. 3, dalla quale, pur entro i limiti degli errori sperimentali, è evidente un aumento della quantità di Mebendazolo fissata dai protoscolici con l'aumentare della con-

Tab. 2 — Inibitori del sistema microtubulare. Attività protoscolicida nel nostro modello sperimentale.

Composto	Attività	Intervallo delle concentrazioni attive (ng/ml)
Tiabendazolo	+	300 - 1500
Mebendazolo	+	0.1 - 540
Griseofulvina	—	
Dapsone	—	
Vincristina	—	
Vinblastina	—	
Benzochinone	+	30 - 300
Flavopocina	—	
Leucinosatina A	—	
Leucinosatina B	—	
Praziquantel	+	100 - 300
Isatina	+	30 - 300

TAB. 3 — Quantità di Mebendazolo fissata da 1000 protocollici di *E. granulosus* sospesi in soluzioni di Mebendazolo a varie concentrazioni.

Conc. iniziale in Mebendazolo prima della sospensione dei protocollici	Conc. finale in Mebendazolo dopo centrifugazione dei protocollici		Quantità di Mebendazolo legato ai protocollici
	(A)	(B)	(A)
30 ng/ml	35 ng/ml	40 ng/ml	73 ng
270 ng/ml	167 ng/ml	161 ng/ml	724 ng
270 ng/ml	114 ng/ml	200 ng/ml	724 ng
540 ng/ml	212 ng/ml	265 ng/ml	1304 ng
540 ng/ml	290 ng/ml	281 ng/ml	804 ng

(A) Metodo elettrochimico coulometrico

(B) Metodo U.V. a 254 nm.

TAB. 4 — Livelli (ng/ml) del Mebendazolo (1.) e dei suoi metaboliti (4., 5. e 6.) nel siero di pazienti in trattamento con Mebendazolo a dosi di mg 60/kg. peso corporeo/die.

Composti (nell'ordine)	PAZIENTE							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1.	16.6	3.9	69.5	15.8	25.0	7.2	2.3	9.1
4.	90.1	22.7	338.4	104.8	40.1	66.2	8.4	138.4
5.	143.1	16.4	111.6	136.6	40.7	94.2	9.4	58.0
6.	—	—	—	—	—	13.4	—	9.2
1.	47.5	9.6	49.0	26.1	16.9	17.6	8.0	3.3
4.	138.3	127.9	338.0	88.7	225.7	11.4	33.6	66.7
5.	15.6	41.1	104.6	72.2	101.4	19.0	33.8	41.5
6.	—	—	—	—	11.1	—	2.4	5.9
1.	13.7	35.9	39.8	13.6	12.0	10.2	11.3	8.4
4.	117.7	281.9	241.0	3.1	50.4	48.0	11.3	73.0
5.	103.7	113.7	90.5	86.8	55.0	33.0	18.0	43.0
6.	5.4	—	—	—	1.9	3.4	—	5.5
1.	17.9	10.0	23.2	16.3	30.3	5.2	5.6	—
4.	36.9	27.3	334.6	20.9	58.5	48.8	72.8	—
5.	105.0	43.6	80.4	73.0	58.3	40.8	38.0	—
6.	—	—	15.6	—	2.8	2.5	3.7	—
1.	19.7	4.0	16.8	11.2	4.8	—	—	—
4.	51.2	9.6	221.0	5.4	131.2	—	—	—
5.	52.5	9.9	47.6	6.0	35.0	—	—	—
6.	—	—	11.1	—	6.2	—	—	—

centrazione del Mebendazolo stesso. La messa a punto di tale metodica ha consentito anche la determinazione del Mebendazolo e dei suoi metaboliti (4., 5., 6.; v. Tab. 1) nel plasma di pazienti affetti da idatidosi [Tab. 4].

Da tali dati è risultata confermata la grande variabilità dei livelli ematici nei vari pazienti, con minori variazioni fra le determinazioni condotte sui sierici di un medesimo paziente. In generale, sono stati osservati bassi tenori in Mebendazolo e nel 2-ammino- α -idrossibenzil-benzimidazolo 6., mentre concentrazioni significativamente maggiori sono state rilevate per l' α -idrossibenzil analogo 4. del Mebendazolo e per il 2-ammino-5-benzil-benzimidazolo 5.

Dal punto di vista chimico sintetico, questi primi risultati ci hanno indotto a preparare due nuovi composti a struttura benzimidazolica prevedibilmente piú solubili in mezzi acquosi del Mebendazolo, del quale entrambi conservano il medesimo nucleo (Tab. 1): il primo (7.), differisce dal Mebendazolo solo perché ne è stato funzionalizzato il gruppo benzoilico, mentre il secondo (9.) è invece da considerarsi un vero e proprio isostero del Carbazim (8.), anch'esso studiato come antelmintico. Questi ultimi composti non sono stati ancora saggiati. La loro sintesi è riassunta nella Tab. 5.



BIBLIOGRAFIA

- [1] FAO/UNEP/WHO, *Guidelines for surveillance, prevention and control of echinococcosis/hydatidosis*. Ginevra, WHO, pp. 1-147 (1981).
- [2] BRANCHINI C., SANDUINI S. e MARANGI M., « *ISIS News* », pp. 19-20 (1985).
- [3] BEYKESON A.D.M., COWER A.G.A., Mc LEOD C., WHITE S., EDWARDS D., SMITH J.D. e MC MANUS D.P., « *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* », 76, 510-518 (1982).
- [4] REISIN I.L., RABITO C.A., ROTUNDO C.A. e CERREJINO M., « *Int. J. Parasitol.* », 7, 189-194 (1977).
- [5] WITASSEK F., BURKHARDY B., ECKERT J. e BERGER J., « *Eur. J. Clin. Pharmacol.* », 20, 427-433 (1981).
- [6] VERHEYEN A., « *Z. Parasitenk.* », 67, 55-65 (1982).