



## Klinik Olarak Faydalı Demir Bağlayıcı Ligandların Tasarım Özellikleri Design Features of Clinically Useful Iron-Binding Ligands

Gülüzar Özboilat<sup>1</sup>, Abdullah Tuli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, Turkey

### ABSTRACT

Removal of excess of free iron, produced under certain physiological conditions in human body, has always been of great problem for therapists. The human body does not have any a physiological mechanism to eliminate iron overload resulting from transfusion. Therefore it is important to synthesize and grade specific ligands that can be attached to the iron molecule. Although there are a large number of iron-binding ligands today, the ideal iron-binding ligands for clinical use are still being searched. In order to identify an ideal iron-binding ligands for clinical use, careful design consideration is essential. The critical features necessary for the design of therapeutically useful orally active iron-binding ligands are presented in this review, together with factors to consider for design of such iron-binding ligands. **Key words:** Ligand, iron, design.

### ÖZ

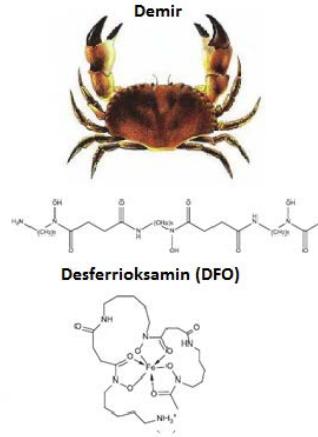
İnsan vücudunda belirli fizyolojik koşullar altında üretilen fazla miktardaki serbest demirin ortadan kaldırılması, terapistler için daima büyük problem oluşturmuştur. Çünkü insan vücudu aşırı demir yükünü gidermek için fizyolojik bir mekanizmaya sahip değildir. Bu nedenle, demir molekülüne bağlanabilecek özgül ligandların sentezlenmesi ve derecelendirilmesi önem arz etmektedir. Günümüzde çok sayıda demir bağlayıcı ligand olmasına rağmen klinik kullanım için ideal ligandlar halen araştırılmaktadır. İdeal bir demir bağlayıcı ligand belirlemek için de dikkatli tasarım gerekmektedir. Terapötik açıdan yararlı oral olarak aktif demir bağlayıcı ligandların tasarımı için gerekli olan kritik özellikler, bu tür ligandların tasarımına yönelik göz önüne alınması gereken faktörler ile birlikte bu derlemede sunulmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Ligand, demir, tasarım



## Giriş

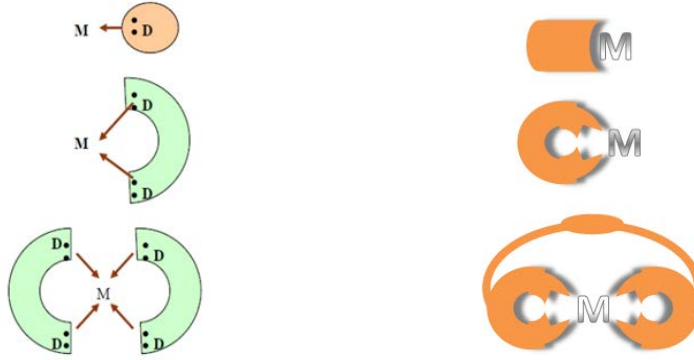
Bir merkez atomunun, ligand adı verilen değişik sayıda atom veya atom gruplarınca koordine edilmesi ile oluşan bileşiğe koordinasyon bileşiği veya kompleks adı verilir. Koordinasyon bileşiklerinde bir metal iyonu, bir elektron verici (donör) grup ile bağ oluşturmuş durumdadır. Metaller, donör atoma sahip ligandlar ile tepkimesi sonucunda bir veya birden çok halkalı bileşikler meydana getirirler. Bu tepkimeler sonunda oluşan koordinasyon bileşiğine "metal şelatlar" denir. Özetle; bir ligandın metal ile şelat oluşturabilmesi için, ilk olarak uygun işlevsel gruplara sahip olması ve daha sonra bu işlevsel gruplardaki N, O, S ve P gibi atomlarla metal arasında kapalı bir hetero-halka oluşturması gerekir. Şelat deyimi bu bileşiği karşılamaktadır. Şelat kelimesi Yunancada pençe anlamına gelen "chele" kelimesinden gelmektedir, bunu yengecin avını pençelemesine benzetilebilir. Bu durum bir metal iyonunun şelat yapıcı ajan tarafından hapsedilmesinin moleküller işlevini anlamamıza yardımcı olur (Şekil.1)<sup>1,2,3,4</sup>.



### Şekil 1. Demir iyonunun şelat yapıcı ajan (DFO) tarafından hapsedilmesi<sup>4</sup>

Ligandlar her bir moleküldeki verici atomların sayısına göre yapısal olarak sınıflandırılabilirler. Ligandtaki metal iyonu tutan bağların sayısına değinmek için dişlilik terimi kullanılır. Ligand iki veya daha fazla verici atom içerdiğinde iki dişli, üç dişli, dört dişli, alt dişli ve genellikle de çok dişli olarak adlandırılırlar (Şekil.2). Fe<sup>3+</sup>'ün koordinasyon gereksinimi en iyi metal merkeze oktahedral yapıda alt verici atomun varlığı ile karşılanır<sup>5,6,7</sup>. Bu yüzden ideal bir demir bağlayıcı

ligand belirlemek için dikkatli tasarım gerekmektedir. Bu derlemede terapötik açıdan yararlı oral olarak aktif demir bağlayıcı ligandların tasarımı için gerekli olan kritik özellikler, bu tür ligandların tasarımına yönelik göz önüne alınması gereken faktörler hakkında bilgi verilmiştir.



**Şekil 2. Metal ligand komplekslerinin oluşumu tek, iki ve çok dişli ligandlar kullanılarak<sup>7</sup>**

## Demir bağlayıcı ligandların tasarım özellikleri

Terapötik açıdan yararlı oral olarak aktif demir bağlayıcı ligand tasarımı için gerekli olan kritik özellikler örneğin molekülünün kimyasal ve biyomedikal özellikleri önem arz etmektedir. Yeni ortaya çıkan demir bağlayıcı ligandlar serisi klinisyenlere demir şelasyon metodolojisini diğer hastalık durumlarına uygulamalarını ve kişisel şelasyon rejimleri tasarlamalarını sağlayacaktır. Bu yüzden oral olarak aktif, toksik olmayan, seçici bir demir bağlayıcı ligand ait başarılı tasarım, çok aranan bir hedef haline gelmiştir. Yeni geliştirilmiş demir bağlayıcı ligand tasarımı yapılırken yıllar içinde daha iyi tanımlanmış belirli kimyasal özellikler şu şekilde özetlenebilir:

- Şelatlama maddesinin ve komplekslerinin uygun toksisite profili;
- Komplekslerinin kararlılığı;
- Demire karşı seçicilik;
- Komplekslerin uygun redoks potansiyeli;
- Enzim inhibisyonu, kompleks yapısı, lipofilik ve moleküler ağırlığı;
- Vücutta aktif olmayan metabolitlere dönüştürülmemelidir;
- İyi bağırsak absorpsiyonu ve hedef hücrelere iyi biyoyararlanımı;

- Şelatlayıcı ve endojen ligandlar arasında demirin hızlı kinetik değişimi;
- Oluşan komplekslerin atılımını kolaylaştıran faktörler;
- Vücut sıvıları metabolik metal dengesini bozmamalı<sup>8,9,10</sup>.

## Toksosite

Demir bağlayıcı ligandların yarattığı toksite demir içeren metalloenzimlerin inhibisyonu; metal seçiciliğinin olmaması nedeniyle fizyolojik olarak çok önemli Zn<sup>+2</sup> gibi metallerin kaybı; demir komplekslerinin Fe<sup>+2</sup> ve Fe<sup>+3</sup> arasında redoks döngüsü ve dolayısıyla serbest radikal oluşturma olasılıkları ve demir kompleksinin kinetik hareketliliğiyle demirin vücutta yeniden dağılımı gibi çok sayıda faktörle ortaya çıkabilir. Fe<sup>+3</sup> spesifik şelatörlerinin karşılaştırmalı toksisitesi Tablo.1’de verilmiştir<sup>8,11</sup>.

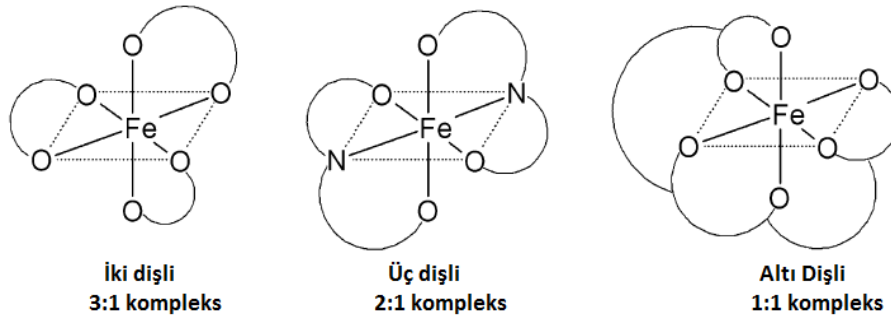
**Tablo 1. Karşılaştırmalı toksite özellikleri<sup>13</sup>**

İki Dişli	Üç Dişli	Altı dişli
Tüm koordinasyon atomlarının "sert" oksijen merkezleri olması Fe(III) yüksek seçicilik sağlayabilir.	Tüm koordinasyon atomlarının "sert" oksijen merkezleri olması zordur. Bu nedenle metal seçiciliği azdır.	Tüm koordinasyon atomlarının "sert" oksijen merkezleri olması Fe(III) yüksek seçicilik sağlayabilir.
Demir afinitesi derişime bağlıdır.	Demir afinitesi derişime bağlıdır.	Demir afinitesi derişime bağlıdır.
Kinetik olarak hareketlidir demirin yeniden dağılımı muhtemeldir	Kinetik olarak hareketlidir demirin yeniden dağılımı muhtemeldir	Kinetik olarak inerttir demirin yeniden dağılımı gözlenmez
Kısmen koordine olmuş 2:1 kompleks oluşturur.	Kısmen koordine olmuş 1:1 kompleks oluşturur	Tamamen koordine olmuş 1:1 kompleks oluşturur
Polimerik kompleks oluşturmazlar	Hücrede hapsolabilecek polimerik kompleksler oluştururlar	Polimerik kompleks oluşturmazlar

## Kompleks Kararlılığı

Belirli bir metal iyonunu aynı anda bağlayabilen koordinat gruplarının sayısına bağlı olarak, bir şelatör iki dişli, üç dişli ve altı dişli olarak sınıflandırılırken, oluşan komplekslerin ve bunların stokiyometreleri ligandın dişlilik sayısı ile belirlenir (Şekil.3). Yani bir metal kompleksinin kararlılığına ilişkin en önemli bir faktör elde edilen ligand-metal kompleksinde

oluşan şelat halkalarının sayısı ve büyüklüğüdür. En uygun şelat halka boyutları beş veya altı atomdan oluşur. Şelat halkalarının sayısı tek bir şelatör bağlı donör atomlarının sayısını artırarak geliştirilebilir; örneğin, koordinasyon sayısı altı olan bir metal iyonu iki dişli ligand ile üç halka veya altı dişli ligandla beş halka oluşturabilir. Dolayısıyla  $Fe^{3+}$  kompleksinin termodinamik kararlılığını en üst düzeye çıkarmak üzere tüm altı vericiyi tek bir molekülde bulundurmak, yani altı dişli ligand oluşturmak gereklidir. Demir-ligand komplekslerinin kararlılığı, altı dişli > üç dişli > iki dişlilik sırasını izler. Altı dişli şelatörler  $Fe^{+3}$  için idealdir, zira toplam ligand konsantrasyonuna ve metal / ligand oranına bağlı miktarlarda değişken stokiometri sadece 1: 1 oranında kompleks oluştururlar. Daha düşük stokiometri demir kompleksleri bazen tehlikelidir, örneğin  $Fe^{+3}$  'ün  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenmesini önlemezler, çünkü Fenton tepkimesi yoluyla ROS üretimi gerçekleşir. Buna karşılık, iki dişli ve üçlü dişli ligandlar, daha düşük moleküler ağırlıkları için oral olarak aktif olabildikleri için, altı dişli şelatörler açısından tercih edilebilir. Oral etkinlik bir ilacın yüksek talep edilen bir özelliğidir: tedavi maliyetlerini düşürür ve hastalar tarafından tolere edilebilirliği artırır<sup>8,10,12,13,14,15</sup>.



**Şekil 3. Şelasyon tedavisinde kullanılan şelatörler<sup>8</sup>**

### Metal Seçiciliği

Şelatlama ajanları  $Fe^{+2}$  ve  $Fe^{+3}$  oksidasyon durumuna göre tasarlanabilir. Yüksek spinli  $Fe^{+3}$  0.65 Å yarıçapındaki tripozisyonda bir katyonudur ve DFO'da bulunan yüklü hidroksamat oksijen atomları gibi ligandlarla en kararlı bağları oluşturur. Buna karşın daha düşük yük yoğunluğuna sahip  $Fe^{+2}$  katyonu 2,2-bipiridil ve 1,10 fenantrolin gibi yumuşak azot içeren

ligandları tercih ederler. Bu ligandlar  $\text{Cu}^{+2}$  ve  $\text{Zn}^{+2}$  gibi biyolojik öneme sahip ve organizma için gerekli olan divalent metal iyonlarına karşı da afinite gösterebilirler. Dolayısıyla  $\text{Fe}^{+2}$ 'ye karşı seçici nontoksik ligand tasarımı oldukça zor ve hatta imkansız olabilir. Aksine  $\text{Fe}^{+3}$  seçici ligandlar dibazik katyonlara göre tribazik katyonlara (Tribazik katyonların çoğu,  $\text{Al}^{+3}$  ve  $\text{Ga}^{+3}$  gibi canlı hücreler için gerekli değildirler) daha seçicidirler.  $\text{Fe}^{+3}$  klinik şelatör tasarımı için daha uygun bir hedeftir. Şelatlayıcı maddelerin metal iyonları ile etkileşimi, ilaç biyoyararlanımı ve muhtemel yan etkiler için belirleyici olabilir. Bu nedenle komplekslerin termodinamik parametrelerinin Cu, Zn, Ca, Mg gibi ana endojen çift değerli metal iyonlarıyla titiz bir şekilde belirlenmesi, biyolojik sıvıyı temsil eden standart koşullarda gerçekleştirilmelidir<sup>8,16</sup>.

### **Komplekslerin Uygun Redoks Aktivitesi**

Bir redoks-aktif metal iyonunun toksik etkisi, dokulara ve organlara karşı belirgin yaralanmalara neden olan reaktif oksijen türlerinin oluşumuna bağlıdır. Organizmada ROS oluşumunu önlemek için bağlı olmayan demir miktarı, demir bağlayıcı proteinler tarafından sınırlanır. Bununla birlikte demir, dengesiz koşullarda bu proteinlerden harekete geçirilebilir ve bu gibi durumlarda redoks tepkimelerine katılır ve ROS üretir. Bu olaylar antioksidan korumanın ötesine geçtiğinde, oksidatif hasar oluşur. Bu gibi durumlarda demir redoks potansiyeli, ROS üretimini engelleyen uygun şelatörler kullanılarak kontrol edilebilir.  $\text{Fe}^{+3}$  için yüksek seçiciliğe sahip Siderofor molekülleri, demirin biyolojik koşullarda redoks döngüsünü önler. Aksine, azalan redoks potansiyelleri ile nitelendirilen azot esaslı ligandlar kullanıldığında, koordine edilmiş demir daha fazla korunmaz ve enzimatik olarak indirgenebilir. Bu durumda demir yakalamak için kullanılan moleküller için istenmeyen bir özelliktir<sup>8,12,10</sup>.

### **Enzim İnhibisyonu**

Hem-içeren enzimler genellikle demir şelatörleri tarafından doğrudan inhibe edilmez, çünkü porfirin grupları demir sıkıca bağlıdır. Aksine, lipoksigenaz, aromatik hidroksilaz ve ribonükleotid redüktaz gibi hem olmayan demir içeren enzimler, demir kenetleme maddeleri tarafından inhibe edilebilir. Örneğin; Lipoksigenazlar genellikle hidrofobik şelatörler tarafından engellenmektedir, bu nedenle bir şelatöre hidrofilik özellikler getirilmesi, bu tür engelleme potansiyelini en aza indirmeye eğilimindedir. Bu ilişki, Hidroksipiridinonlar da piridinon halkasındaki 1-alkil boyutu doğrusal olarak arttırdığında lipoksijenazları inhibe etme

eğilimindedir Ancak artan 2-sübstituent büyüklüğü için daha az belirgindir. Demir şelatörlerin fiziko kimyasal özelliklerinin dikkatli modifikasyonu ile, metalloenzimlere daha az etki edecek şekilde tasarlanmalar mümkündür<sup>8,12</sup>.

### **Lipofilik ve Molekül Ağırlık**

Demire spesifik şelatörler maddeleri için terapötik etkiyi optimize etmek amacıyla yeterli konsantrasyonda hedef bölgelere ulaşması gerekir. Oral olarak aktif bir demir şelatlayıcı gastrointestinal sistemden etkili bir şekilde emilme ve hedef bölgelere erişerek biyolojik membranları çaprazlama yeteneğine sahip olmalıdır. Hider' e göre biyolojik zarlar yoluyla difüzyonu yöneten üç ana faktör (geçirgenliği etkileyen faktör) moleküler büyüklük, lipofiliklik ve net yüküdür (iyonizasyon). İyi emilim veya nüfuzaya sahip bir bileşik, beşten az hidrojen bağı vericisi, ondan az hidrojen bağı alıcısı, 500 Da'dan daha düşük bir molekül ağırlığı olmalıdır Bileşiğin iyonik durumu membran geçirgenliğini de etkiler, yüklenmemiş türler genellikle biyolojik membranlara yüklü olanlardan daha hızlı nüfuz eder. Bu koşullara uymak için, demir şelatörlerin seçimi sınırlıdır ve çoğu heksadentat ligandları, molekül ağırlığı 500 Da'dan fazla olduğu için bu durumdan hariç tutulur. Daha düşük molekül ağırlıkları nedeniyle iki dişli ve üç dişli ligandlar daha yüksek emilim için üstün adaylardır<sup>8,10,17,18</sup>.

### **Kompleks Yapısı**

Serbest radikal üretimini önlemek için demir oksijen ve hidrojen peroksitten doğrudan kaçınacak şekilde koordine edilmelidir. DFO gibi çoğu altı dişli ligandlar kinetik olarak etkisizdir (inerttir) ve demir yüzeyini maskeleyerek hidroksil radikal üretimini minimuma indirir. Bununla birlikte, tüm altı dişli ligandlara bağlı demirin yüzeyini tamamen maskelemek için yeterli boyutla sahip olmayabilir, bu durumda oluşan kompleks, demirin serbest radikaller üretme kabiliyetini artırabilir. Bu durum özellikle kompleksleşmemiş Fe(III)'ün çözünürlüğünün çok düşük olduğu nötral veya alkali pH'larda önem kazanır. Bu tür davranışlara ait klasik örnek, yedinci bir koordinasyon alanının su molekülü tarafından işgal edildiği EDTA tarafından gösterilmektedir. Bu su molekülü, kinetik olarak kararsızdır ve biyolojik ortamda bulunan oksijen, hidrojen peroksit ve diğer birçok ligand ile hızla değiş tokuş yapabilir. İki dişli ve üçlü ligandlar ise kinetik olarak daha kararsızdır ve Fe(III) kompleksleri, düşük ligand konsantrasyonlarında ayrışma eğilimindedir. İki ve üç dişli ligandlarla demir komplekslerinin kısmen ayrışması Fe<sup>+3</sup> katyon yüzeyini diğer ligandlara açık hale getirir<sup>8</sup>.

## Şelatlayıcı ve Endojen Ligandlar Arasında Demirin Hızlı Kinetik Değişimi

Şelatör maddelerin davranışı, kompleks oluşum termodinamiğinin yanı sıra kinetik faktörlere de bağlıdır:

1. Şelatör maddesinin bozulması; Birçok şelatör madde, vücutta ana molekülün şelatlama özelliklerini kaybeden türe dönüştürülür. Bu tepkimeler, hidrokspiridinin glukuronidasyonundan Trien'in asetilasyonuna veya BAL ve SH içeren ligandlar arasındaki -S-S-bağlarının oluşumundan çok farklı olabilir. Doğru ilaç seçimi, metabolik dönüşümün hızlı olması durumunda, örneğin deferoksamin'in deri altı infüzyon olarak uygulanması hayati öneme sahiptir.
2. Plazmada serbest metal iyonu ve şelatlayıcı arasındaki kompleks oluşumu; Plazmada dolaşımdaki toksik demir iyonları genelde transferrin olarak büyük makro moleküllerden sitrat gibi düşük molekül ağırlıklı ligandlara kadar değişen farklı endojen moleküllerle bağlanır.
3. Endojen moleküllere bağlı olan metal ile şelatör maddesi arasındaki tepkime değişim reaksiyonu; Endojen moleküllere bağlı ferrik iyon ile şelatör maddeler arasındaki değişim tepkimesinin kinetiği, şelatlayıcı maddelerin yapısı, dişlilik sayısı ve boyutu gibi çeşitli faktörlere bağlıdır<sup>10</sup>.

### Sonuç

Klinik uygulama için ideal demir bağlayıcı ligandlar tasarlarken metal seçiciliği ve afinitesi, kompleksin kinetik kararlılığı, demir bağlama kapasitesi, biyoyararlanım ve toksisite gibi bir dizi spesifikasyon göz önüne alınmalıdır. Bu makalenin amacı, insan tedavi edici maddeler olarak demir bağlayıcı ligandları tasarlarken göz önüne alınması gereken bu faktörler hakkında ve tasarım için çalışma yapacak bilim insanlarını teşvik etmek için bilgi vermektir. Çünkü yeni demir bağlayıcı ligandların tasarımı ve sentezi terapötik açıdan heyecan verici bir alan olmaktadır. Yeni biyolojik açıdan aktif bu moleküllerin keşfi ve geliştirilmesi, belki de yeni tedavi seçeneklerine yol açacaktır.



## Kaynaklar

1. Gupta KC, Sutar A. Catalytic activities of Schiff Base transition metal complexes. *Coord Chem Rev.* 2008;252:1420–50.
2. Olivieri NF, Brittenham GM. Iron chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood.* 1997;89:739-61.
3. Hershko C, Link GM, Konijn AM, Cabantchik ZI. Iron chelation therapy. *Curr Hematol Rep.* 2005;4:110-6.
4. Hamilton JL, Kizhakkedathu JN. Polymeric nanocarriers for the treatment of systemic iron overload. *Mol Cell Ther.* 2015;24:2-15.
5. Franz KJ. Clawing Back: Broadening the notion of metal chelators in medicine. *Curr Opin Chem Biol.* 2013;17:143–9.
6. Grtunca S. Metal Őelatları. *Vet Fak Derg.* 1968;15:271-8.
7. Gabutti V, Piga A. Results of long-term iron chelation therapy. *Acta Haematol.* 1996;95:26-36.
8. Liu ZD, Hider RC. Design of clinically usefull iron (III)-selective chelators. *Med Res Rev.* 2002;22:26-64.
9. Hider R. Recent developments centered on orally active iron chelators. *Thalassemia Reports.* 2014;2261:19-27.
10. Crisponi G, Nurchi1 VM, Zoroddu MA. Iron chelating agents for iron overload diseases. *Thalassemia Reports.* 2014;4:2.
11. Nurchi VM, Lachowicz JI, Crisponi G, Murgia S, Arca M, Pintus A et al. Kojic acid derivatives as powerful chelators for iron(III) and aluminium(III). *Dalton Trans.* 2011;40:5984-98.
12. Zhou T, Ma Y, Kong, Hider RC. Design of iron chelators with therapeutic application. *Dalton Trans.* 2012;41:6371-89.
13. Hider RC, Kong X. Chemistry and biology of siderophores. *Nat Prod Rep.* 2010;27:637-57.
14. Raymond KN, Carrano CJ. Coordination chemistry and microbial iron transport. *Acc Chem Res.* 1979;12:183-90.
15. Moridani MY, Tilbrook GS, Khodr HH, Hider RC. Synthesis and physicochemical assessment of novel 2-substituted 3-hydroxypyridin- 4-ones, novel iron chelators. *Pharm Pharmacol.* 2002;54:349-64.
16. Cappellini M, Cohen A, Piga A. A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with  $\beta$ -thalassemia. *Blood.* 2006;107:3455-62.
17. Hider RC, Liu ZD. Emerging understanding of the advantage of small molecules such as hydroxypyridinones in the treatment of iron overload. *Curr Med Chem.* 2003;10:1051-64.

18. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Del Rev.* 1997; 23:3-25.

**Correspondence Address / Yazışma Adresi**

Gülizar Özbolat  
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı,  
Adana , Turkey  
e-mail: guluzarozbolat@gmail.com

**Geliş tarihi/ Received:** 17.01.2017**Kabul tarihi/Accepted:** 04.03.2017