

Joanna Lachowicz
Dipartimento di Scienze Chimiche
Università di Cagliari
jojelcz@gmail.com

NUOVI DERIVATI DELL'ACIDO KOJICO COME CHELANTI PER IL FERRO(III)



L'acido kojico è un derivato naturale del pirone prodotto da molte specie di *Aspergillus*. Negli ultimi decenni l'interesse su questo prodotto come chelante per uso in medicina sta crescendo, grazie alla sua capacità di chelarsi con gli ioni dei metalli di transizione.

Il ferro, pur essendo un elemento essenziale per tutti gli organismi viventi, diventa tossico quando presente in eccesso. In soluzione si trova in due stati di ossidazione: Fe(II) e Fe(III). Il Fe(II) viene rapidamente ossidato a Fe(III) a pH e tensione di O₂ fisiologici. Benché il ferro negli organismi viventi sia presente non come ione libero ma essenzialmente complessato da leganti endogenei, può comunque catalizzare la formazione di radicali liberi dannosi per le strutture cellulari [1].

Diverse emoglobinopatie, quali emocromatosi, talassemia e anemia falciforme, sono correlate al sovraccarico di ferro [2] e la cura dei pazienti è mirata alla riduzione di tale accumulo. I chelanti utilizzati devono soddisfare specifici requisiti per ottenere un'efficacia ottimale:

- alta selettività per lo ione ferrico;
- alta affinità;
- assenza di interazione con gli enzimi ione-dipendenti;
- stabilità cinetica dei ferro-complessi [3].

Dal 1970, per quasi trent'anni, il solo chelante usato nella terapia clinica è stato il Desferal (desferrioxamina B, DFO), farmaco da una parte in grado di formare con il Fe(III) un complesso di stabilità eccezionalmente elevata, dall'altra con problemi di accettazione da parte dei pazienti (somministrazione sottocutanea quotidiana per circa dieci ore) e di tossicità a lungo termine a carico di cuore e fegato. La necessità di studiare nuove molecole chelanti selettive, oralmente attive e con minore tossicità è di grande attualità.

I chelanti per il Fe(III) trovano applicazione anche per l'Al(III), metallo

con caratteristiche pro-ossidanti sia *in vitro* che *in vivo* [4]. L'alluminio è presente in patologie quali:

- encefalopatie (balbuzie, disturbi di deambulazione, convulsioni, crisi epilettiche, coma, alterazioni nell'EEG);
- osteomalacia o malattie tumorali dell'apparato scheletrico;

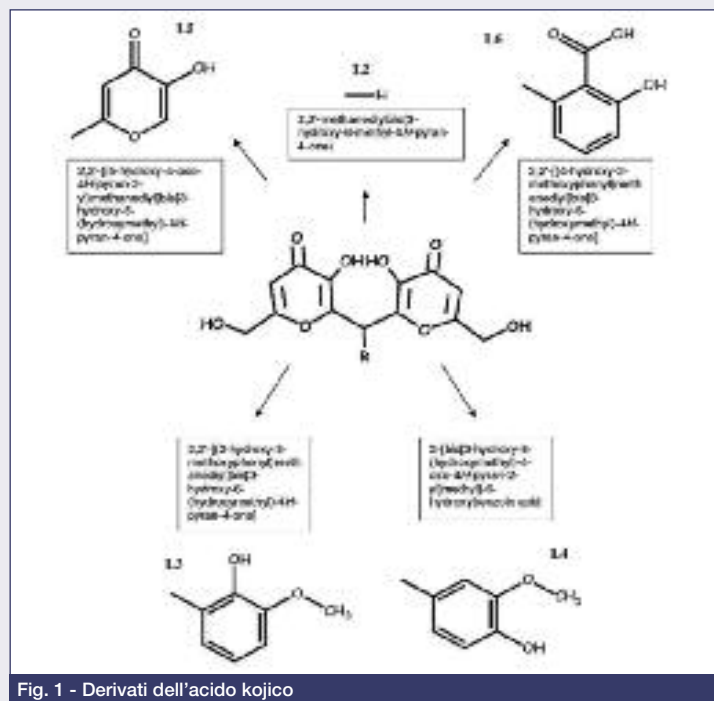


Fig. 1 - Derivati dell'acido kojico

L'autrice è stata insignita del premio Pulidori 2009.

CHIMICA & COMPLESSI METALLICI

- abbassamento delle difese immunitarie;
- aumento della massa ventricolare sinistra e diminuzione della funzionalità cardiaca;
- miopatia;
- anemia microcitica;
- morte improvvisa.

L'acido kojico ($C_6H_6O_4$, 5-idrossi-2-(idrossimetil)-4-pirone, L1) è un derivato pironico naturale sintetizzato da diversi funghi della specie *Aspergillus*. Questa molecola è in grado di inibire la formazione di pigmenti in tessuti animali e vegetali e grazie a questa capacità inibitoria trova largo uso nell'industria alimentare per conservare le proprietà cromatiche dei cibi e in quella cosmetica quale schiarente della pelle. L'acido kojico ha inoltre proprietà antibatteriche e antimicotiche [5, 6]. La ricerca negli ultimi decenni ha mostrato un interesse crescente verso molecole chelanti selettive e in quest'ottica, date le sue proprietà chelanti verso i metalli di transizione, è stato preso in considerazione l'acido kojico [7, 8]. Nella nostra ricerca su nuovi chelanti per il Fe(III), considerando il valore di pFe dell'acido kojico non sufficientemente alto per essere utilizzabile nella terapia ferrochelante, abbiamo rivolto la nostra attenzione alla sintesi di molecole formate da più unità dello stesso acido con conformazioni capaci di coordinare il ferro in modo più efficace [9-11]. Abbiamo ottenuto diverse nuove molecole in grado di coordinare i cationi trivalenti del ferro e dell'alluminio con valori di $\log\beta$ elevati ed incoraggianti. Durante lo studio sulla coordinazio-

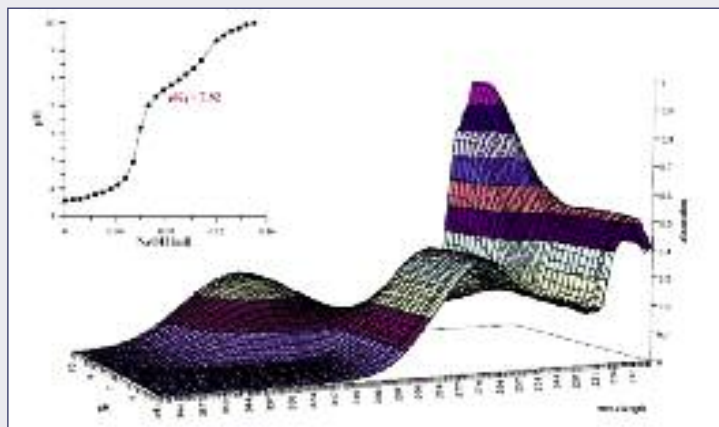


Fig. 2 - Titolazione potenziometrica e UV-Vis del legante acido kojico

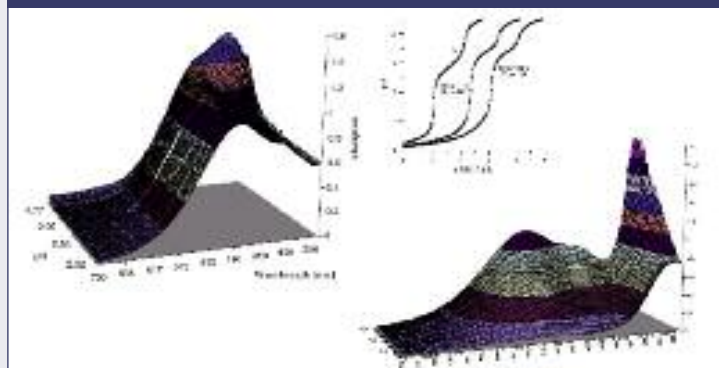
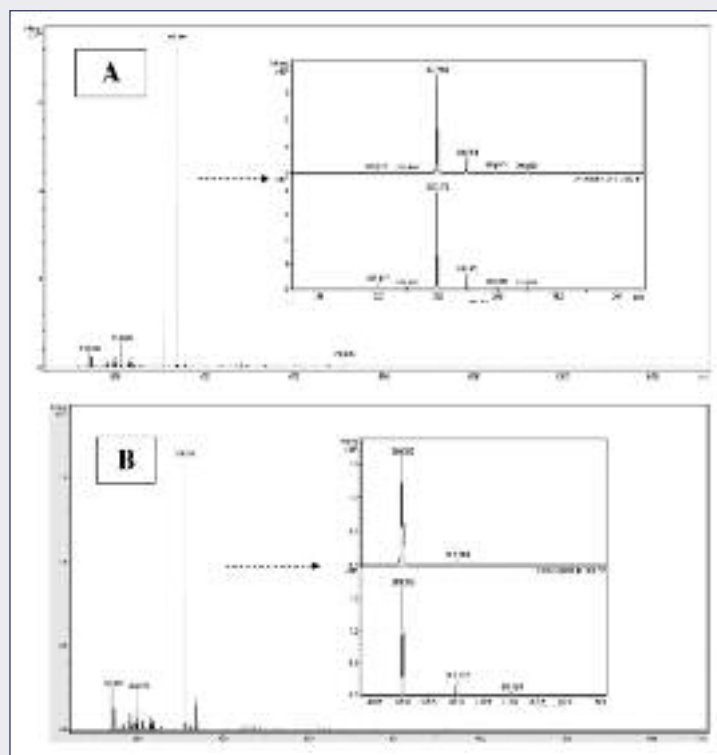


Fig. 3 - Titolazione potenziometrica (secondo piano) e UV-Vis del sistema Fe(III)-acido kojico in rapporto molare 1:3 (UV-Vis, potenziometrica) e 1:2 (potenziometrica)



ambiente acido, un gruppo ossidrilico in ambiente neutro ed il terzo gruppo coordinante che perde il suo protone in ambiente basico. L'acido kojico è un legante piccolo (PM 142 g/mol) che forma complessi del tipo ML, ML₂ e ML₃ con gli ioni Fe(III) ed Al(III) in modo simile al deferiprone, uno dei due chelanti orali attualmente in uso clinico. Lo studio degli equilibri di complesso formazione con L2, L3 ed L4 ha mostrato la formazione di un complesso binucleare M₂L₂ con entrambi i metalli, ed i valori di logβ ottenuti dagli studi potenziometrici hanno dato evidenza di un'elevata stabilità dei complessi formati. Per quanto riguarda gli equilibri di complesso-formazione dei leganti L5 e L6, gli studi sono tuttora in fase di svolgimento.

Nel corso della ricerca si è cercato di coniugare la sintesi con l'applicazione di nuove tecniche allo studio degli equilibri in soluzione. Le titolazioni potenziometriche con l'acquisizione simultanea degli spettri UV-visibili sono una tecnica collaudata e sviluppata dal gruppo presso il quale si è svolta questa ricerca [12]. Questa tecnica permette misurare di elevata precisione ed accuratezza e dà importanti informazioni sulla stechiometria dei complessi, quando le specie che si formano sono caratterizzate da spettri UV-visibili sufficientemente intensi. Essa è stata utilizzata con successo per lo studio dei complessi del Fe(III), mentre non ha permesso osservazioni nel caso dell'alluminio. In questo ultimo caso si sono mostrate molto utili le misure ¹H NMR: negli spettri relativi ai complessi Al-L1 (Fig. 5b) a differenti pH la formazione dei complessi è rivelata da segnali addizionali vicini a quelli del legante libero. Questo tipo di osservazioni è caratteristico dei complessi dell'alluminio che presentano tempi di scambio tra le forme libere e legate particolarmente lunghi. La protonazione dei leganti causa di per sé uno shift dei segnali del legante libero per cui è stato quindi necessario lo studio del legante libero in funzione del pH (Fig. 5a). Altra tecnica utilizzata in questa ricerca è stata l'ESI-MS, tecnica non ancora di

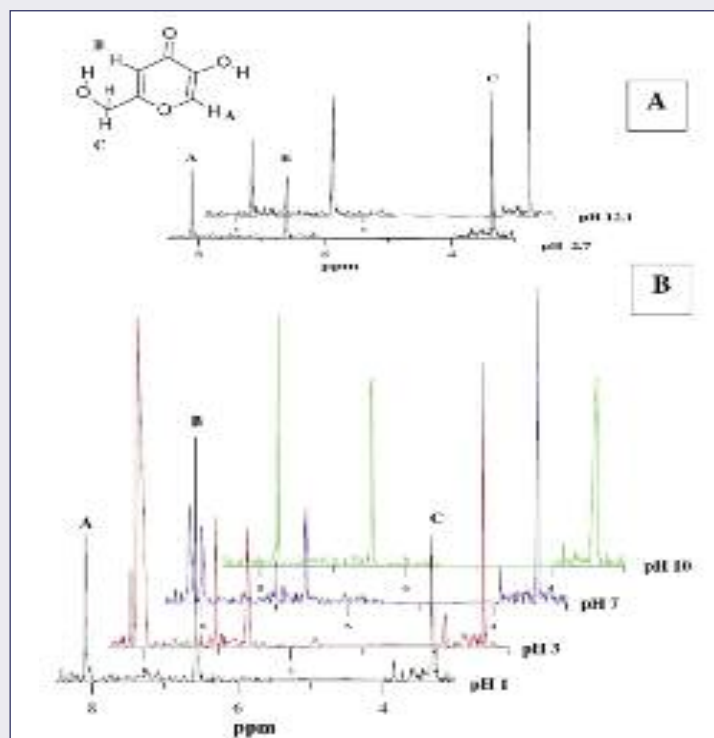


Fig. 5 - a) ¹H NMR del legante acido kojico; b) ¹H NMR del sistema Al(III)-acido kojico in rapporto molare 1:3

uso comune nello studio degli equilibri di complesso-formazione, veloce e che fa uso di piccole quantità di prodotto (la concentrazione di complessi in soluzione ~10⁻⁶ M) permettendo sia lo studio di complessi di bassa solubilità sia di operare con quantità minime di sostanza. Le stechiometrie dei complessi determinate da misure ESI-MS (Fig. 4a,b) trovano perfetto accordo con quelle determinate sulla base degli studi potenziometrici, spettro-fotometrici e ¹H NMR.

Bibliografia

- [1] R.J. Bergeron, G.M. Brittenhan, *The Development of Iron Chelators for Clinical Use*, CRC Press, 1994, 3.
- [2] S. Piyaomgkol *et al.*, *Chemistry - A European Journal*, in press.
- [3] O. Andersen, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2004, **4**, 159.
- [4] P. Zatta, *Coord. Chem. Rev.*, 2002, **228**, 271.
- [5] T. Yabuta, *J. Chem. Soc.*, 1924, **125**, 575.
- [6] F.A. Burdock *et al.*, *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, 2001, **33**, 80.
- [7] A. Beelik, *Adv. Carbohydrate Chem.*, 1956, **11**, 145.
- [8] J.W. Wiley *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 1942, **64**, 963.
- [9] V.M. Nurchi *et al.*, *Polyhedron*, 2009, **28**, 763.
- [10] V.M. Nurchi *et al.*, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2008, **103**, 227.
- [11] V.M. Nurchi *et al.*, *Chemistry - A European Journal*, submitted.
- [12] G. Crisponi *et al.*, *Annali di Chimica*, 2004, **94**, 147.

ABSTRACT

New Kojic Acid Derivatives as Chelants for Iron(III)

Kojic acid (C₆H₆O₄; 5-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-4-pyrone, L1;) is a natural pyrone derivative, produced by many species of *Aspergillus* moulds. In the last decades the interest of kojic acid as a chelator in medicine has been growing, because of its chelation ability towards the transition metal ions. Because of the rather low pFe value of the kojic acid, our idea was to use the kojic acid as a template in the synthesis of the new, more efficient chelating agents.

The aim of our studies was not only the discovery of the more effective chelators for trivalent ions but also the use of the new techniques in the equilibrium studies of metal ions.