

DERIVADOS DE ACRIDINA COMO INTERCALADORES DE DNA: UMA REVISÃO

Rawny Galdino Gouveia¹; Ricardo Olimpio de Moura²

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas-UEPB E-mail: rawny_gg@hotmail.com

² Departamento de Farmácia, Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas-UEPB E-mail: ricardo.olimpiodemoura@gmail.com

Resumo: O câncer é uma doença caracterizada pelo crescimento desordenado das células, sendo considerado hoje como um problema de saúde pública mundial. Dentre as principais alternativas para o seu tratamento se encontra a quimioterapia, porém a maioria dos agentes quimioterápicos atua de forma não específica, lesando vários tipos de células do organismo. Dentre o quimioterápicos existentes destacam-se os intercaladores de DNA que são compostos poliaromáticos que podem se inserir entre pares de bases adjacentes da dupla fita de DNA e inibir a síntese de ácido nucleico. Dentre esses compostos, os derivados de acridina possuem atividade inibitória frente a enzimas reguladoras nucleares, como as topoisomerase e, há uma forte interação com pares de bases do DNA. Devido a tais características, pesquisadores vêm buscando a descoberta de novos candidatos a fármacos intercaladores do DNA e um número expressivo de moléculas tem sido avaliado quanto às suas propriedades anticâncer e intercaladoras. Este trabalho propôs uma revisão bibliográfica de estudos com os novos derivados de acridina, buscando analisar a interação destes com o DNA, as atividades antiproliferativas e a inibição da enzima topoisomerase.

Palavras-chave: acridina, ligação ao DNA, topoisomerase.

INTRODUÇÃO

Atualmente, pesquisadores vêm utilizando diversas técnicas da Química Medicinal para racionalizar medicamentos a nível molecular, inserindo estratégias para modificações estruturais das moléculas, promovendo otimização e buscando seletividade. Também são utilizados diversos ensaios para avaliar a atividade biológica de novas moléculas candidatas a fármacos, buscando a elucidação de mecanismos de ação destes

para entender a eficácia no tratamento de diversas patologias, dentre elas o câncer (BARROS et al., 2012).

O câncer é caracterizado por um desvio nos mecanismos que controlam e dirigem a proliferação celular e que tem em comum o crescimento desordenado de células, e por ser a principal causa de mortalidade e considerado como um problema de saúde pública no Brasil e no mundo, busca-se o desenvolvimento de novas drogas com grande eficácia na

atividade anticancêr e que atuem reduzindo os efeitos colaterais (LANG et al., 2013; GAO et al., 2015).

Estima-se que nos anos 2016/2017, a ocorrência de aproximadamente 600 mil casos novos de câncer no Brasil. O câncer de pele do tipo não melanoma será o mais incidente na população brasileira, seguido pelos tumores de próstata, mama feminina, cólon e reto, pulmão, estômago e colo do útero (INCA, 2015).

Dentre as principais alternativas para o tratamento do câncer, encontra-se a quimioterapia (CHILIN et al., 2009), porém a maioria dos agentes quimioterápicos atua de forma não específica e seu uso pode ser limitado devido ao mecanismo de resistência farmacológica desenvolvido por células tumorais (KUMAR et al., 2013). Devido a essa resistência, há uma busca por novas moléculas aromáticas heterocíclicas que possuam afinidade com o DNA e suas enzimas reguladoras, constituindo um novo arsenal no combate ao câncer (LANG et al., 2013; ALMEIDA et al., 2015).

Dentre as opções de quimioterápicos temos os derivados de acridina que têm sido investigados e utilizados para o tratamento do câncer por mais de um século e vem sendo

inv

estigado como intercaladores de DNA, pois a citotoxicidade da maioria das drogas à base de acridina é baseada na sua capacidade de intercalar o DNA e suprimir a atividade da topoisomerase I e II que estão entre os principais alvos biológicos na terapia do câncer (PATEL et al., 2010; BARROS et al., 2012; LAFAYETTE et al., 2013).

Os primeiros quimioterápicos contendo núcleo acridínico foram desenvolvidos durante os anos de 1970, o que conduziu a introdução do derivado *m*-amsacrina, ou *N*-[4-(acridin-9-ilamino-metóxi-fenil)-metanosulfonamida na clínica médica em 1976, fármaco conhecido por exibir atividade citotóxica potente, sendo empregado clinicamente no tratamento de leucemias agudas e linfomas (BARROS et al., 2012; LAFAYETTE et al., 2013).

Nota-se, portanto, que os estudos de atividade biológica de novas moléculas que se ligam ao DNA são imprescindíveis para elucidação de mecanismo de ação. Nesta linha de raciocínio, este trabalho propôs uma revisão bibliográfica de estudos com os novos derivados de acridina, buscando analisar a interação destes com o DNA, as atividades antiproliferativas e a inibição da enzima topoisomerase.

METODOLOGIA

Este artigo é uma revisão bibliográfica, desenvolvido a partir de produção científica disponível nas seguintes bases eletrônicas de dados: Biblioteca virtual de Saúde (BVS) – Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Science Direct, Portal de Periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) e Scientific Electronic Library Online (SciELO). Foram incluídos artigos escritos em língua inglesa, portuguesa e espanhola que relatavam estudos com derivados de acridina que apresentassem a avaliação de atividade antiproliferativa e/ou ligação ao DNA e/ou inibição das enzimas topoisomerases. O recorte temporal abrangeu o período compreendido entre janeiro de 2010 até o presente momento. Os descritores utilizados foram: “Derivados de Acridina”, “Atividade Anticâncer”, “Atividade Antiproliferativa”, “Citotoxicidade” e “Topoisomerase”. Esses mesmos termos foram traduzidos para o inglês. Foram avaliados a qualidade metodológica dos artigos selecionados (o título e resumo) para verificar se estes se enquadrariam nos critérios de inclusão.

(83) 3322.3222

contato@conbracis.com.br

www.conbracis.com.br

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Acridina, $C_{13}H_9N$, é um composto aromático policíclico com estrutura planar (Figura 1) (LAFAYETTE et al., 2013) que têm sido utilizado para fins comerciais por mais de um século por apresentar diversas atividades biológicas (BARROS et al., 2012; PATEL et al., 2010; ALMEIDA et al., 2015). Os derivados de acridina nos primórdios de sua descoberta foram utilizados como corantes e drogas antibacterianas (GAO et al., 2015).

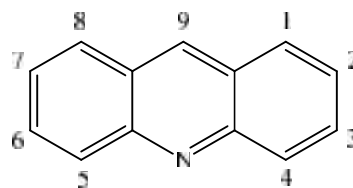


Figura 1 – Estrutura química da acridina.

Quimicamente, a acridina é um alcaloide de antraceno, conhecido por denominações diversas como: dibenzopiridina; 10-azaantraceno; 2,3,4,6-dibenzopiridina; 2,3-dibenzoquinolina, entre outros (KUMAR et al., 2012; SCHMIDT e LIU, 2015). A modificação química das acridinas, tais como a introdução de substituintes ou anéis heterocíclicos diferentes faz com que os derivados sintetizados possuam atividades biológicas distintas e proporcione uma melhor relação estrutura-atividade com o receptor molecular desejado (KALIRAJAN et al., 2012).

A Amsacrina (*m*-AMSA) é um derivado de acridina, que foi considerada um dos primeiros agentes intercalantes de DNA e considerado como um inibidor de topoisomerase II, sendo esta aprovado para o tratamento clínico em 1976 (Figura 2) (BARROS et al., 2012; BARROS et al., 2013; KUMAR et al., 2013). A *m*-AMSA é ativa no tratamento de leucemias agudas e linfomas, mas é ineficaz em tumores sólidos (BARROS et al., 2012). Devido a problemas como efeitos secundários, resistência a medicamentos e fraca biodisponibilidade e o seu metabolismo ter sido associado com a produção de radicais livres, o que pode causar sérios danos aos tecidos normais (BARROS et al., 2013; LANG et al., 2013; ZHANG et al., 2014), há uma busca constante por pesquisadores por novos derivados através de modificações químicas neste composto protótipo para melhorias na terapia do câncer.

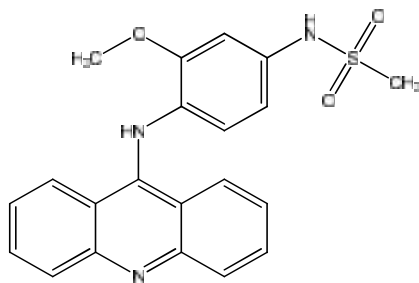


Figura 2 – Amsacrina.

A atividade biológica dos derivados de acridina tem sido atribuída à pla

naridade destas estruturas aromáticas, o qual tem a capacidade de se ligar ao DNA, proporcionando o direcionamento das pesquisas de drogas antitumorais para a elucidação do mecanismo de ação de acridinas que dentre os alvos biológicos destacam-se: topoisomerases I e/ou II, a telomerase e telômeros / proteínas quinases (JANOVEC et al., 2011; OLSZEWSKA et al., 2014).

Atividade anticâncer

Pesquisas tem sugerido que o DNA é um dos principais alvos biológicos para os novos agentes quimioterápicos que através de interações com essa estrutura, os agentes anticâncer podem provocar a parada do ciclo celular e induzir a apoptose (LANG et al.; 2013; ZHAO et al., 2013; OLSZEWSKA et al., 2014).

O DNA tem uma forte afinidade a diversos compostos aromáticos heterocíclicos, (ALMEIDA et al., 2015) e sua interação com as moléculas é geralmente ligando-se de forma não covalente através de três modos: ligações eletrostáticas, intercalação e ligação em sulco (LAFAYETTE et al., 2013; ZHAO et al., 2013).

Ensaio para avaliar a citotoxicidade dos derivados de acridina frente a linhagens celulares foram descritas em diversos trabalhos. Dentre as principais

linhagens celulares pode-se destacar os ensaios frente as células de leucemia humana (HL-60), carcinoma laríngeo humano (Hep-2), células embrionárias do rim (HEK293T)(PATEL et al.; 2010), adenocarcinoma de pulmão humano (KUMAR et al.; 2012; OLSZEWSKA et al., 2014), culturas de células da mama (T47D), do pulmão (NCI H-522), cólon (HCT-15), dos ovários (PA-1), e do fígado (Hep G2) (ARYA et al. 2015).

A intercalação é uma das principais maneiras de ligação de fármacos ao DNA que está estreitamente relacionada com a sua capacidade antitumoral, colocando-os entre os promissores agentes para o tratamento do câncer (ZHAO et al., 2013; LAFAYETTE et al., 2013).

Uma das propostas de interação dos agentes intercalantes de DNA é formar pilhas entre pares de bases de DNA, reduzindo, assim, a abertura e o desenrolamento da dupla hélice e alongamento da cadeia de DNA (FERREIRA et al.; 2012; OLSZEWSKA et al., 2014).

Além disso, agentes intercaladores são capazes de suprimir a atividade das enzimas topoisomerases I e II que controlam o enovelamento e desenovelamento do DNA, a proliferação de

células, a sobrevivência e a apoptose, que tem sido um dos alvos potenciais para o desenvolvimento de novos agentes anticancerosos (Li et al., 2014; OLSZEWSKA et al., 2014; ALMEIDA et al., 2015).

A síntese de agentes acridínicos substituídos em outras posições além da posição 9 tem sido investigada por vários pesquisadores. Janovec et al. (2011) em seu trabalho, sintetizou novos derivados de acridina que apresentavam dois anéis imidazolinídonas simétricos, 3,6-bis((1-alkil-5-oxo-imidazolidin-2-ilideno)imino)acridina (Figura 3) e foram avaliadas as suas propriedades anticâncer, ligação ao DNA por UV-vis, fluorescência, Dicroísmo Circular e inibição da topoisomerase I. A interação das bis-imidazolidinas e ctDNA mostrou que as constantes de ligação para os derivados **26a-e** estão na faixa de outros compostos intercaladores (10^4 - 10^5 M⁻¹) sugerindo que o mecanismo de interação com o DNA é pouco dependente do comprimento da cadeia alquila nas posições 3 e 6 do anel por meio do grupo conector. Os compostos foram testados com células HL-60 (leucemia humana), L1210 (leucemia murina) e HeLa (carcinoma de útero humano). O composto **26e** foi o mais ativo com valor de IC50 para HL-60 = 2.44 µM, sendo este valor

sete vezes maior que o padrão Amsacrina (IC₅₀= 0.34 μM)); e contra as células L1210= 4.31 μM, mais ativa que a 9-aminoacridina cujo valor de IC₅₀=45.0 μM, mas menos ativa que a *m*-AMSA (IC₅₀=0.05 μM). Nos testes para avaliar a inibição da topoisomerase I, detectou-se que os derivados **26a-e** inibem a topo I em uma concentração de 40 μM apesar de somente os derivados com cadeias alquila maiores serem capazes de penetrar as membranas celulares e suprimir a proliferação celular.

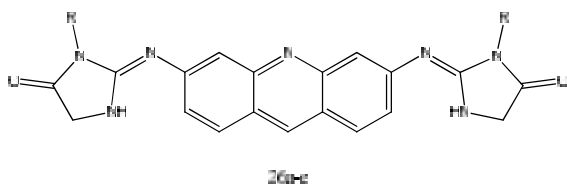


Figura 3. Estrutura química de derivados 3,6-bis((1-alkil-5-oxoimidazolidin-2-ylideno)imino)acridina R: etil, n-propil, n-butil, n-pentil, n-hexil.

Barros et al. (2013) obtiveram novos derivados tiazacridínicos, que demonstraram ser bastante eficazes na inibição da topoisomerase I e promissores como drogas anticâncer (Figura 4). Para avaliar a ação citotóxica, quatro derivados tiazacridínicos foram testados frente a células de Carcinoma do Cólon Humano (HCT-8) através da progressão do ciclo celular utilizando citometria de fluxo. Após 12 horas, as percentagens de células na fase G₂/M foram de 19,7% (AC-4),

2% (AC-7) e 19,9% (AC-10), e 24 horas depois houve a redução na quantidade destas células.

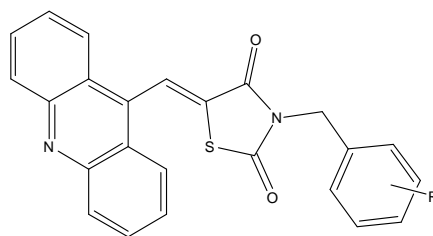


Figura 4. Derivados tiazacridínicos sintetizados por Barros et al. R= 4-CH₃ (AC-4), R= 4-Br (AC-7), R= 4-Cl (AC-10).

Por outro lado, Lafayette et al. (2013) avaliaram as propriedades de ligação dos novos derivados imidazacridínicos e tiazacridínicos ao DNA (Figura 5), pois estes derivados têm mostrado resultados promissores como supressores da atividade tumoral em linhagens de células cancerígenas. Para compreender o mecanismo de ligação destas moléculas ao DNA, foram examinadas testes por absorção eletrônica, fluorescência e espectroscopia de Dicroísmo Circular. Realizou-se também teste de intercalação e observou-se que os derivados 4 (K_b = 1,46x10⁴), 5 (K_b = 2,37x10⁴) e 6 (K_b = 3,25x10⁴) apresentando uma proposta sobre o mecanismo de ligação ao DNA destes derivados sugerindo tanto intercalação e ligação externa ao sulco. Eles demonstraram atividade inibitória frente a

topoisomerase I na concentração de 100 μM .

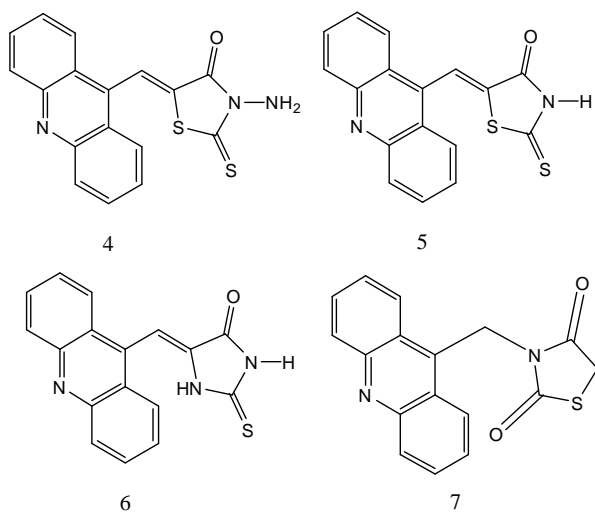


Figura 5. Novos derivados imidazacridínicos e tiazacridínicos sintetizados por Lafayette (2013) e colaboradores.

Li et al (2014), sintetizaram uma série de novos derivados à base de acridina e foi avaliada sua atividade antiproliferativa contra as células K562 e células HepG-2. O composto 7c (Figura 6) com o grupo piridin-2-il-methanamino substituído na posição C9 mostrou boa atividade antitumoral contra ambas as linhas celulares. A afinidade de ligação do DNA do composto 7c foi avaliada por espectro de absorção de UV-vis e os espectros de emissão de fluorescência, constatando-se que o composto 7c pode interagir com o DNA, provocando uma distorção estrutural. Também foi avaliado a

(83) 3322.3222

contato@conbracis.com.br

www.conbracis.com.br

inibição da enzima Topoisomerase I mediada por relaxamento do plasmídeo pBR322 de DNA, o qual o mesmo exibiu excelente atividade inibidora de aproximadamente 1 $\mu\text{mol/L}$, enquanto que tinham atividades indetectáveis a 0,5 $\mu\text{mol/L}$, o que estava em conformidade com a sua atividade antiproliferativa. Estes resultados do trabalho de Li et al. sugeriram que a atividade antitumoral do seu composto foi atribuída a ligação ao DNA e inibição da topo I, podendo este ser desenvolvido como um excelente candidato para uma maior otimização química.

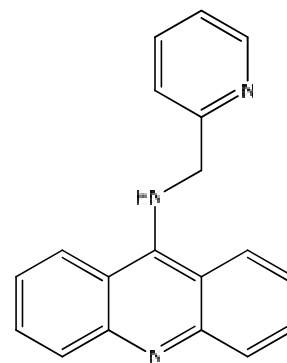


Figura 6. Composto (N - ((piridin-2-il) metil) acridin-9-amina (7c)

Almeida et al. (2015) em seus estudos, utilizaram o núcleo acridina como um composto principal e modificações estruturais foram feitas pela adição de diferentes porções de tiossemicarbazida substituído. Foram sintetizados oito novos compostos e avaliadas as propriedades de ligação de DNA e atividades antiproliferativas. O composto mais eficaz

na ligação a ctDNA in vitro ($K_b = 1,0 \times 10^6$) foi o (Z) -2- (acridin-9-il-metileno) - N- (4-clorofenil) hydrazinecarbothioamida (3f), enquanto que o composto mais ativo no ensaio de atividade antiproliferativa (GI_{50} menor do que $10 \mu M$ para todas as linhas de células de tumor) foi o (Z) - 2- (acridin-9-il-metileno) -N- phenylhydrazinecarbothioamida (3a) (Figura 7).

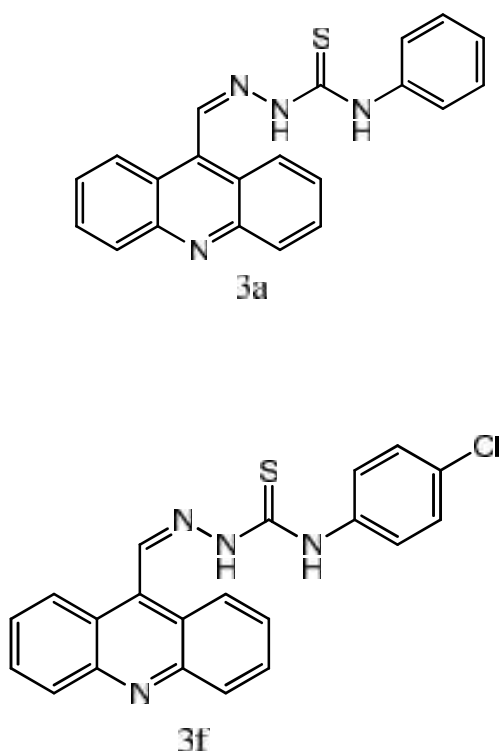


Figura 7. Estruturas químicas dos compostos 3a e 3f sintetizados por Almeida e colaboradores.

Este trabalho permite orientar a escolha do tamanho e forma da parte intercalante e a seleção estratégica de substituintes que aumentam as propriedades de ligação a DNA ou antiproliferativas. As características dos

substituintes no anel fenil influência tanto a ligação ao DNA e as propriedades antiproliferativas.

CONCLUSÕES

Estudos demonstrados neste artigo, apontam que um dos grandes desafios da química medicinal moderna é a descoberta de novos agentes intercalantes e inibidores das enzimas topoisomeras, por conta da escassez clínica deles. A correlação entre intercalação ao DNA e a inibição de atividade topoisomerase de novas moléculas é amplamente estudada e sendo a atividade biológica um dos testes imprescindíveis para a compreensão do mecanismo de ação dos novas moléculas promissoras para o tratamento do câncer.

Referências.

- ALMEIDA, S. M. V.; LAFAYETTE, E. A.; SILVA, L. P. B. G.; AMORIM, C. A. C.; OLIVEIRA, T. B.; RUIZ, A. L. T. G.; CARVALHO, J. E. C.; MOURA, R. O.; BELTRÃO, E. I. C.; LIMA, M. C. A.; Júnior; L. B. C. Synthesis, DNA Binding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemicarbazone Derivatives. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 13023-13042, 2015.
- ARYA, S.; ANUJ KUMAR. A.; KUMAR, N.; ROY, P.; SONDHI, S. M. Synthesis and anticancer activity evaluation of some acridine derivatives. *Med. Chem. Res.* 24:1942–1951. 2015.
- BARROS, F. W. A.; SILVA, T. G.; PITTA, M. G. R.; BEZERRA, D. P.; COSTA LOTUFO, L. V.; MORAES, M. O. M.; PESSOA, C.; MOURA, M. A. F. B.; ABREU, F. C.; LIMA, M. C. A.;

- GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; GOULART, M. O. F. Synthesis and cytotoxic activity of new acridine-thiazolidine derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 20, 3533–3539. 2012.
- CHILIN, A.; MARZARO, G.; MARZANO, C.; DALLA VIA, L. D.; FERLIN, M. G.; PASTORINI, G.; GUIOTTO, A. Synthesis and antitumor activity of novel amsacrine analogs: The critical role of the acridine moiety in determining their biological activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 17, 523–529. 2009.
- FERREIRA, R.; AVIÑÓ, A.; MAZZINI, S.; ERITJA, R. Synthesis, DNA-Binding and Antiproliferative Properties of Acridine and 5-Methylacridine Derivatives. **Molecules**. 17: 7067-7082. 2012.
- GAO, C.; LI, B.; ZHANG, B.; SUN, Q.; LI, L.; LI, X.; CHEN, C.; TAN, C.; LIU, H.; JIANG, Y. Synthesis and biological evaluation of benzimidazole acridine derivatives as potential DNA-binding and apoptosis-inducing agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 23, 1800–1807. 2015.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: INCA, 2015, 124p.
- JANOVEC, L.; KOZURKOVÁ, M.; SABOLOVÁ, D.; UNGVARSKY, J.; PAULÍKOVÁ, H.; PLŠÍKOVÁ, J.; VANTOVÁ, Z.; IMRICH, J. Cytotoxic 3,6-bis((imidazolidinone)imino)acridines: Synthesis, DNA binding and molecular modeling. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 19, 1790–1801. 2011.
- LAFAYETTE, E.A.; ALMEIDA, S.M.V.; PITTA, M.G.R.; BELTRÃO, E.I.C.; SILVA, T.G.; MOURA, R.O.; PITTA, I.R.
- CARVALHO JÚNIOR, L.B.; LIMA, M.C.A. Synthesis, DNA binding and topoisomerase I inhibition activity of thiazacridine and imidazacridine derivatives. **Molecules**, 18, 15035–15050. 2013.
- LANG, X.; LI, L.; CHEN, Y.; SUN, Q.; WUA, Q.; LIU, F.; TAN, C.; LIU, H.; GAO, C.; JIANG, Y. Novel synthetic acridine derivatives as potent DNA-binding and apoptosis-inducing antitumor agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. 21, 4170–4177. 2013.
- LI, B.; GAO, C-M.; SUN, Q-S.; LI, L-L.; TAN, C-Y.; LIU, H-L.; JIANG, Y-Y. Novel synthetic acridine-based derivatives as topoisomerase I Inhibitors. **Chinese Chemical Letters**. 25, 1021–1024. 2014.
- KALIRAJAN, R.; RAFICK, M. H. M.; SANKAR, S.; JUBIE, S. Docking Studies, Synthesis, Characterization and Evaluation of Their Antioxidant and Cytotoxic Activities of Some Novel Isoxazole-Substituted 9-Anilinoacridine Derivatives. **The ScientificWorld Journal**. Volume 2012.
- KUMAR, R.; KAUR, M.; KUMARI, M. Acridine: a versatile heterocyclic nucleus. **Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research**. v. 69, nº 1, p. 3-9, 2012.
- KUMAR, R.; SHARMA, A.; SHARMA, S.; SILAKARI, O.; SINGH, M.; KAUR, M. Synthesis, characterization and antitumor activity of 2-methyl-9-substituted acridines. **Arabian Journal of Chemistry**. 2013.
- OLSZEWSKA, P.; MIKICIUK-OLASIK, E.; BŁASZCZAK-SWIATKIEWICZ, K.; SZYMANSKI, J.; SZYMANSKI, P. Novel tetrahydroacridine derivatives inhibit human lung adenocarcinoma cell growth by inducing G1 phase cell cycle arrest and apoptosis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. 68, 959–967. 2014.
- SCHMIDT, A.; LIU, M. Recent Advances in the Chemistry of Acridines. **Advances**

(83) 3322.3222

contato@conbracis.com.br

www.conbracis.com.br

in **Heterocyclic Chemistry**, Volume 115
ISSN 0065-2725. 2015.

ZHANG, B.; LI, X.; LI, B.; GAO
C.; JIANG Y.. Acridine and its derivatives:
a patent review (2009 - 2013). **Expert
Opin Ther Pat.** ;24(6):647-64. 2014.

ZHAO, J.; LI, W.; MA, R.; CHEN, S.;
REN, S.; JIANG, T. Design, Synthesis and
DNA Interaction Study of New Potential
DNA Bis-Intercalators Based on
Glucuronic Acid. **International Journal
of Molecular Sciences.** 14.16851-16865.
2013.