

## COMPOSTOS MESOIÔNICOS E SUA ATIVIDADE ANTITUMORAL: REVISÃO DE LITERATURA

Gabriel Rodrigues da Silva<sup>1</sup>; Beatriz Fernandes de Souza<sup>2</sup>; Marcia Regina Piuvezam<sup>3</sup>

1 Discente de Farmácia pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil.

2 Discente de Ciências Biológicas Biologia pela UFPB, João Pessoa, PB, Brasil.

3 Doutora em Ciências pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Professora Titular no Departamento de Fisiologia e Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFPB, João Pessoa, PB, Brasil.

### RESUMO

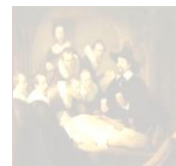
Compostos mesoiônicos são substâncias sintéticas, betaínas heterocíclicas, constituídas por um anel heterocíclico de cinco átomos, com estruturas planas e cujo átomo alfa está no mesmo plano do anel. Essas características acarretam em interações com o DNA, proteínas e passagem através de membranas biológicas. A presente revisão objetivou realizar o levantamento bibliográfico da atividade antitumoral de alguns compostos mesoiônicos. O composto N-(4-cloro-3-nitrofenil)-sydnone (Syd1) apresentou atividade antineoplásica *in vitro* em linhagem celular de carcinossarcoma Walker-256 e diminuiu do peso e do volume do tumor *in vivo*, onde o carcinossoma foi transplantado. Em adição, o Syd1 também induziu aumento na expressão de proteínas pró-apoptóticas Bax, p53 e caspase-3 e reduziu a expressão da proteína anti-apoptótica Bcl-2, sem efeito hepatotóxico. Compostos mesoiônicos derivados do cloreto de 4-fenil-5-(4-x-cinamoil)-1,3,4-tiadiazolium-2-fenilamina (MI-D) em que o x sofreu substituições com diferentes radicais reduziram, *in vitro*, a viabilidade das células de melanoma humano dependente de concentração e de tempo e, essa atividade citotóxica relacionou-se com a inibição da adesão das células tumorais. Em outro estudo utilizando camundongos com o carcinoma de Ehrlich e com o sarcoma 180 (S180) observou-se uma redução significativa do tumor e do volume ascítico. Desta forma, constata-se que os compostos mesoiônicos são protótipos promissores no tratamento do câncer.

**Palavras-chave:** Mesoiônico; Compostos; Atividade; antitumoral.

### MESOIONIC COMPOUNDS AND THEIR ANTITUMORAL ACTIVITY: A REVIEW

#### ABSTRACT

Mesoionic compounds are synthetic substances, heterocyclic betaines, constituted by a heterocyclic ring of five atoms, with flat structures and whose alpha atom is in the same plane of the ring. These characteristics lead to interactions with DNA, proteins and diffusion through biological membranes. The present review aimed to carry out a bibliographic survey of the antitumor activity of some mesoionic compounds. The N-(4-chloro-3-nitrophenyl)-sydnone (Syd1) compound showed *in vitro* antineoplastic activity in Walker-256 carcinosarcoma cell line and decreased tumor weight and volume *in vivo*, where the carcinosoma was transplanted. In addition, Syd1 also induced increased expression of pro-apoptotic Bax, p53 and caspase-3 proteins and reduced expression of the anti-apoptotic Bcl-



2 protein, without hepatotoxic effect. Mesoionic compounds derived from 4-phenyl-5-(4-x-cinnamoyl)-1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine (MI-D) chloride where the x underwent substitutions with different radicals reduced, *in vitro*, the viability of human melanoma cells depending on concentration and time, and the cytotoxic activity was related to the inhibition of tumor cell adhesion. In another study using Ehrlich carcinoma and sarcoma 180 (S180), mice were treated and exhibit a significant reduction of tumor and ascitic volume. Therefore, mesoionic compounds are shown to be promising prototypes in the treatment of cancer.

**Keywords:** Mesoionic; Compounds; Activity; antitumor.

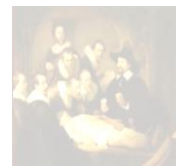
## INTRODUÇÃO

Os compostos mesoiônicos são substâncias sintéticas pertencentes à classe das betaínas heterocíclicas, que por sua vez, são moléculas planas compostas por cinco átomos, com pelo menos uma cadeia lateral, apresentando momentos dipolo e o átomo  $\alpha$  no mesmo plano do anel (1). A combinação dessas características acarreta em interações com biomoléculas como DNA e proteínas e o seu caráter neutro possibilita a passagem destas substâncias através de membranas biológicas (2).

Os compostos mesoiônicos de uma maneira geral, têm sido alvo de diversos estudos por possibilitar aplicações farmacêuticas (3). Eles possuem estruturas únicas que favorecem grande diversidade de atividades biológicas (4), como propriedades anti-inflamatórias e analgésicas, antibióticas, antifúngica e antitumoral. (5, 6, 7, 8, 9, 10).

O câncer é um termo genérico utilizado para designar a patologia na qual as células do organismo se dividem de forma anormal e descontrolada podendo chegar a invadir outros tecidos (11). Existem mais de 200 doenças reunidas na categoria de câncer e que, apesar de compartilharem características em comum, são extremamente diferentes em relação à sua origem histopatológica, genética, progressão, agressividade, prognóstico e tratamento (12).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo. Globalmente, quase 1 em cada 6 mortes é devido ao câncer (13). Tendo em vista a complexidade e importância do tema em questão, o avanço e incentivo nos estudos de moléculas com potencial antitumoral se fazem cruciais para o avanço da ciência e do bem-estar da sociedade de um modo geral. Desta forma, neste artigo analisamos e discutimos alguns estudos relacionados à utilização de compostos mesoiônicos com potencial citotóxico e antitumoral.



## METODOLOGIA

Essa revisão bibliográfica foi realizada nas bases de dados Pubmed, NCBI, SciELO, Science Direct, Google Acadêmico e o Periódicos da CAPES utilizando os seguintes descritores: *compound*, *mesoionic*, *cancer*, *antitumor* e *activity* e foram selecionados artigos que relatassem a atividade antitumoral dos compostos mesoiônicos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No desenvolvimento tumoral, existem características celulares que são importantes para a instalação e manutenção do câncer, tais como: angiogênese, microambiente favorável, adesão célula-célula e à matriz extracelular, proliferação e diferenciação celular desordenada (11). De acordo com essas características, compostos que interfiram em um ou mais parâmetros descritos podem ser fortes candidatos para estudos relacionados ao tratamento de tumores.

## VIABILIDADE CELULAR

A diminuição da viabilidade celular é um importante parâmetro para avaliar a toxicidade de um composto e, conseqüentemente, a atividade antitumoral já que no câncer as células sofrem duplicação desordenada e progressiva e desenvolvem resistência aos mecanismos de morte celular (14).

Utilizando o composto 4-phenyl-5-(4-nitrocinnamoyl)-1,3,4thiadiazolium-2-phenylamine chloride (MI-D) em quatro diferentes tipos de linhagens celulares de melanoma humano (MEWO, MEL-85, SK-MEL e A2058) em função de diferentes tempos de incubação celular (24h e 48h) e diferentes concentrações da substância (2.5 - 75 $\mu$ M), foi-se observado que o MI-D reduziu a viabilidade das células cancerosas (10).

Nas culturas de células MEL-85, a viabilidade das células reduziu aproximadamente 82% quando utilizada na concentração de 75 $\mu$ M após 24h. Já na linhagem celular SK-MEL, o efeito citotóxico foi de 100% utilizando-se a concentração de 75 $\mu$ M após 24h; Além disso, após 48h o efeito citotóxico foi máximo em concentrações a partir de 50 $\mu$ M para as linhagens A2058 e MEWO (10).



Analisando os efeitos de outros derivados do 1,3,4-thiadiazolium, como o MI-J na viabilidade das células de hepatocarcinoma (Hepg2), observou-se que na concentração de 25 $\mu$ M a viabilidade foi reduzida em 50% após um período de 24h de incubação e análise pelo ensaio de MTT. Em contrapartida, esse efeito não foi observado nos hepatócitos primários (células saudáveis) de ratos que foram usados como grupo controle no experimento (15) sugerindo baixo efeito hepatotóxico.

Outros compostos derivados de cloretos de 4-fenil-5-(4-X-cinamoil)-1,3,4-tiadiazolium-2-fenilamina, onde o x pode ser OH ou NO<sub>2</sub> também apresentaram atividade antitumoral e citotoxicidade contra carcinoma de Ehrlich e Sarcoma 180 (S180). A administração intraperitoneal de diferentes doses dos compostos em camundongos, observou-se inibição na formação de ascite induzido pelo S180 e crescimento do tumor de Ehrlich. (9).

## CRESCIMENTO CELULAR

Diferentemente do que ocorre nos tecidos normais, as células cancerosas adquirem capacidade de se autoativar com fatores de crescimento produzidos pela própria célula. Isso faz com que se estabeleça um sistema de retroalimentação positiva, onde à medida que a patologia evolui, as células se tornam ainda mais independentes de fatores externos e isso favorece o crescimento da massa tumoral (11).

Quando as quatro diferentes linhagens de células de melanoma humano (MEWO, MEL-85, SK-MEL e A2058) foram expostas a concentrações superiores à 10 $\mu$ M constatou-se que o crescimento foi totalmente inibido além de apresentar uma extensiva morte celular. Em adição, o MI-D mostrou-se um importante agente antiproliferativo também em concentrações não-citotóxicas (10).

## ADESÃO CELULAR E MORFOLOGIA

Modificações na morfologia e na adesão celular são variáveis importantes durante o processo de metástase que podem estar presentes nos mais diversos tipos de câncer. A metástase consiste na disseminação de células cancerosas para tecidos distantes e a posterior adaptação ao novo microambiente tecidual (16). Para que este processo de metástase ocorra, uma série de eventos complexos é necessária, e primordialmente, a célula precisa perder a adesão célula-célula e célula-matriz extracelular. (16)



A morfologia celular também é outro importante parâmetro que deve ser analisado. As células em tecidos saudáveis possuem uma estrutura padrão, enquanto as tumorais, devido às rápidas e constantes divisões mitóticas, perdem sua diferenciação e, conseqüentemente, sua função no tecido. Em síntese, um tumor quando analisado microscopicamente será constituído por arranjos celulares desorganizados de diferentes tamanhos e com margens mal definidas (17).

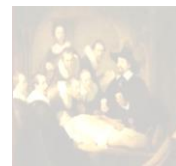
Em células da linhagem MEL-85, o composto MI-D foi capaz de reduzir a adesão a determinados componentes da matriz extracelular como as lamininas, fibronectinas e o matrigel. Após duas horas de incubação, concentrações acima de 5 $\mu$ M reduziram a adesão à laminina para 65%, à fibronectina para 34% e ao matrigel para 71% (10). Já em relação à morfologia celular, constatou-se que as células da linhagem MEL-85 se tornaram mais arredondadas em relação às células do controle. Ademais, na concentração de 25 $\mu$ M do MI-D resultaram no encolhimento de algumas células, que exibiram protusões na membrana plasmática semelhantes aos corpos apoptóticos formados durante o processo de apoptose. (10). Com concentrações de 50 $\mu$ M a morfologia de quase todas as células foi alterada, apresentando também intensas massas de cromatina condensada (núcleo picnótico). (10)

Células MEL-85 também tratadas com o MI-D mostraram reorganização da estrutura do citoesqueleto de F-actina em forma de grânulos periféricos. Essa reorganização pode ter sido responsável pelo rompimento das interações entre as células e a matriz extracelular. (10)

## MORTE CELULAR POR APOPTOSE E METABOLISMO

A apoptose é um tipo de morte celular que ocorre por diferentes vias moleculares de ativação. É um processo onde o estímulo gerado na célula leva à fragmentação de seu DNA e suas organelas, para que em seguida as partículas formadas sejam fagocitadas por células especializadas, tais como os macrófagos (17). A apoptose pode ser fisiológica (ex. eliminação de células epiteliais, resposta inflamatória, senescência celular) ou patológica (ex. estímulos nocivos – radiação, drogas citotóxicas- morte celular nos tumores) (18).

A utilização de derivados do 1,3,4-thiadiazolium em células da linhagem HepG2 demonstrou que após 24h de tratamento, os compostos MI-J, MI-4F e MI-2,4diF aumentaram as taxas de apoptose nas células em cultura em aproximadamente 12, 9 e 8%, respectivamente (15). Outras características comuns aos processos apoptóticos também



foram observadas como o aumento da vacuolização, encolhimento celular e picnose nuclear após o tratamento com estes derivados. (15).

Também foi relatado que o MI-D afeta o metabolismo mitocondrial, facilitando assim a morte da célula, superando assim a resistência à morte que é característica das células cancerosas. (10).

Por fim, ratos machos Wistar que foram tratados oralmente por 12 dias com o composto 3-[4-chloro-3-nitrophenyl]-1,2,3-oxadiazolium-5-olate (Syd-1) apresentaram uma redução considerável do volume e do peso tumoral do tumor de Walker-256. (19); As amostras do tumor possuíam corpos apoptóticos e elevada expressão de proteínas como a Bax, p53 e caspase-3, além de um concomitante decréscimo da expressão da proteína anti-apoptótica Bcl-2. (19)

Quanto à análise da hepatotoxicidade, o Syd-1 nos experimentos *in vivo* não demonstrou dano hepatológico (19), sendo este um resultado diferencial e importante pois um dos principais efeitos colaterais dos medicamentos antineoplásicos existentes na clínica é o dano hepático, de modo que isso limita o uso de determinados medicamentos em pacientes (18)

## CONCLUSÃO

Estudos têm evidenciado a atividade antineoplásica de compostos mesoiônicos sintéticos, tornando-os moléculas promissoras para serem acrescidos ao arsenal dos atuais medicamentos utilizados na terapia do câncer. Mediante a importância e urgência em descobrir novas moléculas capazes de controlar o desenvolvimento de tumores, estudos mais incisivos e frequentes desses compostos mesoiônicos são de notória importância. Desta forma, a ampliação do conhecimento dos mecanismos de ação desses compostos irá contribuir para o avanço no tratamento do câncer bem como o bem-estar da sociedade de um modo geral.

## REFERÊNCIAS

1. Oliveira MB, Miller J, Pereira AB, Galembeck GL, Moura and Simas AM. Phosphorus, Sulfur, Silicon and the Related Elements. Chemical physics letters. 1996; 257(5-6), 639-646.
2. Kier LB, Roche EB. Medicinal chemistry of the mesoionic compounds. J Pharm Sci. 1967; 56: 148– 169.



3. Corell T, Pedersen SB, Lissau B, Moilanen E, Meätsa-Ketela T, Kankaanranta H, Vuorinen P, Vapaatalo H, Rydell E, Andersson R, Marcinkiewicz E, Korbut R, Gryglewski RJ. Pharmacology of mesoionic oxatriazole derivatives in blood, cardiovascular and respiratory systems. *Pol J Pharmacol.* 1994; 46: 553– 566.
4. Badachikar SV, Tikare RK, Puranik GS. Synthesis, reactions and biological activity of 3-[p-(N-methyl/ethyl-N-phenylcarbamoyl)] phenylsydnones. *Indian J Chem.* 1986; 25B: 1079–1080.
5. Satyanarayana K, Rao MNA. Synthesis and anti-inflammatory, analgesics and antipyretic testing of 4-[1-oxo-(3-substituted aryl)-2-propenyl]-3-phenylsydnones and of 3-[4-[3-(substituted aryl)-1-oxo-2-propenyl] phenyl] sydnones. *J Pharmacol Sci.* 1995; 84: 263– 266.
6. Moustafa MAA, Eisa HM. Synthesis and antimicrobial activity of 3-(substituted-phenyl)-sydnones. *Arch Pharmacol.* 1991; 325: 397– 401.
7. Montanari CA, Beezer AE, Sandall JPB, Montanari MLC, Miller J, Giesbrecht AM. On the interaction of some mesoionic compounds with *Saccharomyces cerevisiae* by biological microcalorimetry. *Rev Microbiol.* 1992; 23: 274– 278.
8. Shinzato TO, Grynberg N, Gomes RM, Echevarria A, Miller J. Antitumor activity of new mesoionic compounds against three murine tumors. *Med Sci.* 1989; Res 17: 865– 866.
9. Grynberg N, Santos AC, Echevarria A. Synthesis and in vivo antitumor activity of new heterocycles derivatives of 1,3,4-thiadiazolium- 2-aminide class. *Anti-Cancer Drugs.* 1997; 8: 88– 91.
10. Senff-Ribeiro A, Echevarria A, Silva EF, Veiga SS, Oliveira MBM. Antimelanoma activity of 1,3,4-thiadiazolium mesoionics: a structure– activity relationship study. *Anti-Cancer Drugs.* 2004; 15(3): 269– 275.
11. Schulz WA. *Molecular Biology of Human Cancers. An Advanced Student's Textbook.* 1ª ed. Dordrecht, Netherlands: Springer; 2007.
12. Saito RDF, Lana MVG, Medrano RF, Chammas R. *Fundamentos de oncologia molecular.* 1ª ed. São Paulo: Atheneu; 2015.
13. World Health Organization [<http://www.who.int/>]. Cancer key facts [acesso em 27 de jun 2018]; Disponível em: <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
14. Otake AH, Chammas R, Zatz R. Câncer: Novos alvos para tratamento. *Ciência Hoje.* 2006; v.38, n. 223, p. 28-33.
15. Gozzi GJ, Pires ADRA, Valdameri G, Rocha MEM, Martinez GR, Noletto G R, Di Pietro A. Selective Cytotoxicity of 1, 3, 4-Thiadiazolium Mesoionic Derivatives on Hepatocarcinoma Cells (HepG2). *PloS one.* 2015; 10(6), e0130046.
16. Nguyen DX, B os PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ--speci□c colonization. *Nature Reviews Cancer.* 2009; 9:274-284.
17. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. *Biologia molecular da célula.* 6ª ed. Porto Alegre: Artmed Editora; 2017.



18. Kuma V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, Robbins e Cotran, bases patológicas das doenças. 8º edição, Rio de Janeiro: Elsevier; 2010.

19. Galuppo IF, Livero FAR, Martins GG, Cardoso CC, Beltrame OC, Klassen IMB Canuto AVS, Echevarria A, Telles JEQ, Klassen G, Acco A. Sydnone 1: A Mesoionic Compound with Antitumoral and Haematological Effects In Vivo. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2016; v. 119, pág. 41 –5.