



## **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO 1,3-bis(2-metoxi-4-nitrofenil)triazeno**

### **EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY of 1,3-bis(2-methoxy-4-nitrofenyl)triazene**

Jose Costa Sampaio Filho<sup>1</sup>, Ingrid Santos Gonçalves<sup>2</sup>, Erima Joyssielly Mendonça Castro<sup>3</sup>, Sielys dos Santos Amaral<sup>4</sup>, Rodrigo Vieira Blasques<sup>5</sup>, Emmeline de Sá Rocha<sup>6</sup>, Patrícia de Maria Silva Figueiredo<sup>7</sup>, Paulo Cesar Mendes Villis<sup>8</sup>

**RESUMO:** O composto químico inédito utilizado neste trabalho foi o 1,3-bis(2-metoxi-4-nitrofenil)triazeno pertencente à classe dos triazenos, espécie química envolvendo cadeias abertas com três ou mais átomos de nitrogênio ligados em sequência, caracterizados pelo grupo diazoamínico. Muitos triazenos têm atividade biológica, uma vez que as amins presentes nestes compostos têm locais específicos de ação nas membranas celulares e a capacidade de formar ligações de hidrogênio. Os triazenos são amplamente utilizados em sínteses experimentais de novos compostos. Este trabalho descreve a avaliação da atividade biológica e o potencial antimicrobiano do triazeno 1,3-bis(2-metoxi-4-nitrofenil)triazeno (TZC). Foram realizados testes das atividades antimicrobianas do TZC, mediante avaliação da sensibilidade da solução do composto frente às bactérias ATCC's (*American Type Culture Collection*, ATCC) e isolados clínicos, aplicando-se ensaios microbiológicos padronizados. O potencial antimicrobiano foi determinado pela Concentração Inibitória Mínima (CIM), exibindo resultados promissores, com atividade diante de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, com baixos valores de CIM. Os resultados mostraram a potencialidade do TZC, frente à resistência das cepas bacterianas selecionadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** triazeno, atividade antimicrobiana, gram-positivos e gram-negativos.

<sup>1</sup> Mestrando em Meio Ambiente pela Universidade do CEUMA – UNICEUMA. E-mail: j.sampaio@ceuma.br

<sup>2</sup> Discente do Curso de Engenharia Ambiental pela Universidade do CEUMA – UNICEUMA).

E-mail: ingrids\_goncalves@hotmail.com

<sup>3</sup> Discente do Curso de Engenharia Ambiental pela Universidade do CEUMA – UNICEUMA.

E-mail: erima.castro@hotmail.com

<sup>4</sup> Discente do Curso de Engenharia Ambiental pela Universidade do CEUMA – UNICEUMA.

E-mail: sielys\_22@hotmail.com

<sup>5</sup> Discente do Curso de Química Industrial pela Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

E-mail: blasques@live.com

<sup>6</sup> Mestranda em Biotecnologia pela Universidade Federal do Tocantins. Graduada em Farmácia com Habilitação em Bioquímica pela Universidade Federal do Maranhão.

E-mail: emmelinesa@gmail.com

<sup>7</sup> Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade de São Paulo – USP. Professora da UFMA.

E-mail: figueiredo.patricia@gmail.com

<sup>8</sup> Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria – UFSM. Professor da Universidade do CEUMA – UNICEUMA. E-mail: paulo.villis@ceuma.br



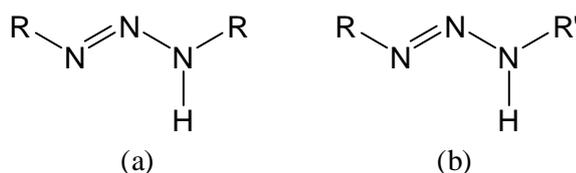
**ABSTRACT:** The novel chemical compound used in this work was the 1,3-bis(2-methoxy-4-nitrophenyl)triazene belonging to the class of triazenes, a chemical species involving open chains with three or more nitrogen atoms connected in sequence, characterized by the diazoaminic group. Many triazenes have biological activity, since the amines present in these compounds have specific sites of action on cell membranes and the ability to form hydrogen bonds. Triazenes are widely used in experimental syntheses of novel compounds. This work describes the evaluation of the biological activity and antimicrobial potential of triazene 1,3-bis (2-methoxy-4-nitrophenyl) triazene (TZC). The antimicrobial activity of TZC was tested by evaluating the sensitivity of the compound solution to the ATCC (American Type Culture Collection, ATCC) and clinical isolates, and standardized microbiological assays were applied. The antimicrobial potential was determined by the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), showing promising results, with activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, with low MIC values. The results showed the potentiality of the TZC, against the resistance of the bacterial strains selected.

**KEYWORDS:** Triazene, Antimicrobial Activity, Gram-positive and Gram-negative.

## 1. INTRODUÇÃO

Triazenos são compostos químicos, cujo grupo funcional inorgânico insaturado envolve cadeias abertas contendo três átomos de nitrogênio interligados em sequência, compondo o grupo funcional denominado de triazenila ( $N=N-NH$ ), conforme a Figura 1 (SANTOS, 2005).

**Figura 1.** Representação estrutural genérica de triazeno simétrico (a) e assimétrico (b)

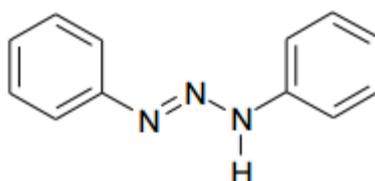


Fonte: SANTOS (2005).

Estas cadeias nitrogenadas, que apresentam 3, 4, 5 ou mais átomos de nitrogênio em sequência, podem ser facilmente estabilizadas por substituintes estrategicamente selecionados (R, R'), permitindo assim várias possibilidades de coordenação, por proporcionarem uma grande disponibilidade eletrônica em função da geometria molecular e da presença dos sítios doadores de elétrons (VILLIS, 2007).

Johann Peter Griess, em 1859, relatou a síntese do primeiro composto triazeno simétrico, o 1,3-bis(fenil)triazeno, onde sintetizou o primeiro triazeno orgânico em seus estudos na preparação de sais de diazônio (HÖRNER, 2008).

**Figura 2.** Representação da fórmula estrutural do 1,3-bis(fenil)triazeno



Esses compostos são estratégicos na química da coordenação, pois os ligantes nitrogenados podem se coordenar a centros metálicos, formando diversas estruturas com diferentes tipos de íons. Outro ponto interessante está no fato de que muitos triazenos apresentam atividade biológica. Essa atividade biológica pode ser justificada, pois o grupo das aminas presentes nesses compostos são amplamente utilizadas em sínteses experimentais de novos compostos por possuírem sítios específicos de ação nas membranas celulares e capacidade de formar ligações de hidrogênio (KOEHLER, 2007; SANTOS, 2005).

### 1.1 A importância dos triazenos

Segundo Santos (2005), uma nova série de novos compostos triazenos vem sendo desenvolvidas como protótipo para intercalação no DNA, objetivando-se uma alternativa aos atuais tratamentos, seja como quimioterápico, antitripanossômicos ou antimicrobianos, bem como à atual resistência enfrentada por muitas drogas comercializadas hoje.

No decorrer das últimas décadas, o desenvolvimento de fármacos eficientes no combate a infecções bacterianas revolucionou o tratamento médico, ocasionando a redução drástica da mortalidade causada por doenças microbianas. Por outro lado, a disseminação do uso de antibióticos lamentavelmente fez com que as bactérias também desenvolvessem defesas



relativas aos agentes antibacterianos, com o conseqüente aparecimento de resistência. O fenômeno da resistência bacteriana a diversos antibióticos e agentes quimioterápicos impõe sérias limitações às opções para o tratamento de infecções bacterianas, representando uma ameaça para a saúde pública. Esta resistência prolifera-se rapidamente através de transferência genética, atingindo algumas das principais bactérias Gram-positivas, como enterococos, estafilococos e estreptococos (RANG, 2001; WALSH, 2000).

O combate à resistência bacteriana é um problema de saúde pública mundial e deve ser abordado sob vários aspectos. O entendimento dos processos relacionados à ação de antibióticos e ao surgimento da resistência, o planejamento, a síntese e avaliação farmacológica de novos agentes antimicrobianos mais potentes, sua posterior aplicação terapêutica de forma racional e a adoção de normas para controle de infecções no meio hospitalar representam diferentes níveis de ações contínuas e interligadas. Fármacos com novos mecanismos de ação deverão apresentar vantagens no combate a micro-organismos resistentes e à emergência de novos patógenos (GUIMARAES, 2010; SILVEIRA, 2006).

A atividade antibacteriana de compostos triazenos tem sido pouco explorada, alguns autores já avaliaram a atividade frente a bactérias e fungos e obtiveram sucesso, Paraginski *et al* (2014), avaliou a atividade de 15 compostos triazenos, incluindo um complexo de vanádio e um sal de potássio de um hidroxitriazeno, frente a várias bactérias, incluindo cepas ESBL ( $\beta$ -lactamases de espectro ampliado). Eles foram ativos frente a bactérias multirresistentes, incluindo cepas produtoras de ESBL, MBL (metalo- $\beta$ -lactamases) e do gene AmpC o qual medeia a produção de  $\beta$ -lactamases cromossômicas induzíveis as quais conferem resistência aos antibacterianos  $\beta$ -lactâmicos e não são inibidas pelo ácido clavulânico. Essas evidências têm grande impacto na atualidade devido a esses mecanismos de resistência bacteriana estarem entre os mais prevalentes. Este estudo serviu para direcionar os compostos mais ativos de acordo com os substituintes presentes, no caso, os grupos hidroxila, carboxílico, nitro e amida, sendo os mais ativos aqueles diariltiazenos substituídos com os grupos hidroxil, carboxifenil e (fenildiazetil)fenil.

Atualmente, não é raro o isolamento de microrganismos resistentes a antibióticos existentes no comércio, decorrente, em grande parte, do uso indiscriminado destes medicamentos, o que justifica a síntese constante de novos compostos triazenos, que através de avaliação da atividade biológica, podem apresentar resultados satisfatórios no campo da



medicina, como antimicrobianos, quimioterápicos, ou até mesmo como nucleases com ação específica, para que possam ser utilizadas como ferramenta nas técnicas de biologia molecular. (SANTOS, 2005).

Um dos usos mais difundidos dos triazenos é no desenvolvimento de moléculas que apresentem atividade biológica na terapia contra o câncer, podemos citar como exemplo de fármaco usado comercialmente a Dacarbazina<sup>®</sup> 5-(3,3-dimetil-1-triazeno)-imidazol-4-carboxiamida conhecida como DTIC, que foi o primeiro triazeno a apresentar atividade antitumoral, relatado em 1962 por Shealy e colaboradores (FREITAS, 2012).

Existem vários mecanismos propostos para elucidar o potencial biológico dos triazenos. Sabe-se que o mecanismo de ação depende necessariamente da estrutura do triazeno, sendo que, derivações nos grupamentos diretamente ligados à cadeia de nitrogênios proporcionam alterações no comportamento destas espécies químicas. É importante lembrar que o meio reacional onde o composto deve atuar na presença de determinados metabolitos e outras condições fisiológicas, também influenciam na sua atividade (RAJASKI; WILLIAMS, 1998 *apud* SANTOS, 2005).

Este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade biológica e o potencial antimicrobiano do TZC, empregando ensaios microbiológicos padronizados.

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1 Tipo de estudo e local da pesquisa**

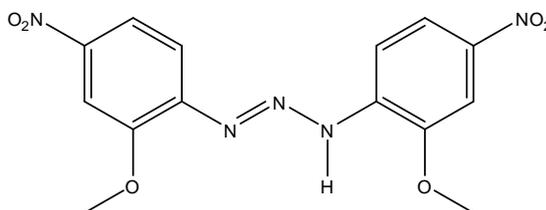
Este trabalho consiste em um estudo experimental descritivo com testes quantitativos e qualitativos, realizados no Laboratório de Microbiologia Clínica da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

### **2.2 Preparo da solução**

Uma solução do TZC (Figura 3; 378,6 mg/L em álcool isopropílico) foi preparada e denominada de STZC.



**Figura 3.** Representação estrutural do 1,3-bis(2-metoxi-4-nitrofenil)triazeno



### 2.3 Seleção de cepas bacterianas

As amostras bacterianas são oriundas do Laboratório de Microbiologia Clínica da Universidade Federal do Maranhão - UFMA. Para realização dos testes foram utilizados micro-organismos padrão ATCC e isolados clínicos. As amostras bacterianas são:

- *Shigella flexneri* (Amostra de fezes 278)
- *Streptococcus agalactiae* (Secreção vaginal 12092294)
- *Acinetobacter baumannii* (Secreção traqueal 12337641)
- *Staphylococcus haemolyticus* (amostra de sangue 13084879)
- *Proteus mirabilis* (Secreção traqueal 557691)
- *Staphylococcus epidermidis* (amostra de sangue 13079158)
- *Enterobacter cloacae* (12330175)
- *Morganella morganii* (5721529)
- *Staphylococcus saprophyticus* (13087266)
- *Serratia marcescens* (12285366)
- *Salmonella spp.* (7855729)
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)
- *Escherichia coli* (ATCC 2592)

### 2.4 Preparo das suspensões microbianas

Os microrganismos foram inicialmente reativados a partir das suas culturas originais e mantidos em meio líquido BHI (Brain Heart Infusion) a 37°C por 24 horas. Posteriormente, as amostras foram cultivadas em placas de Ágar Nutriente a 37°C por 24 horas. Colônias isoladas



foram então ressuspensas em 3 mL de solução fisiológica (NaCl 0,9 %) estéril até atingir uma turbidez equivalente na escala 0,5 de McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL).

## **2.5 Triagem pelo Método de difusão em Agar (TSA)**

O potencial antimicrobiano da solução de triazeno foi inicialmente avaliado pela técnica da difusão em meio Müller Hinton com discos impregnados com a solução de triazeno. As placas com meio de cultura foram identificadas, e discos inertes foram impregnados com a solução. Foi utilizado como controle positivo discos de clorafenicol 30µg. Em seguida, o material foi levado à estufa a 37°C por 24 horas. No dia seguinte, mediu-se os halos formados em milímetros com auxílio de um paquímetro e observou-se o resultado para dar prosseguimento aos demais testes.

Após o teste de triagem, para todos os demais testes foram utilizadas as seguintes amostras:

- *Streptococcus agalactiae* (Secreção vaginal)
- *Acinetobacter baumannii* (Secreção traqueal)
- *Staphylococcus haemolyticus* (amostra de sangue)
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Salmonella spp.*
- *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)
- *Escherichia coli* (ATCC 2592)

## **2.6 Macrodiluição em tubos com BHI e Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

A determinação da CIM foi feita através da técnica de macrodiluição segundo a metodologia da diluição em caldo proposta pelo National Committee for Clinical Laboratory Standard. Para isto, as colônias foram ressuspensas em solução fisiológica (0,9 %) até atingir uma turbidez equivalente 0,5 na escala de McFarland, os tubos de vidro estéreis foram preparados com 1 mL de BHI e 1mL do produto seguido de diluições seriadas, cada inóculo de bactéria foi transferido para os tubos com revelador cloreto de CTT (trifeniltetrazólio) a 1%. Os tubos foram em seguida homogeneizados e levados à estufa a 37°C por 24 horas. A CIM será a menor concentração da solução onde não houve crescimento bacteriano visível.



## **2.7 Concentração Bactericida Mínima (CBM)**

Foram utilizados os tubos incubados para determinação da CIM em meio líquido para determinação da CBM. Uma alíquota (1 mL) de cada tubo foi inoculada em placas de Ágar Müeller Hinton e posteriormente incubadas em ambiente à 37°C por 24 horas. As CBM foram consideradas para a menor concentração da solução onde não houve crescimento celular sobre a superfície do ágar inoculado (99,9% de morte microbiana).

## **2.8 Teste de Atividade Hemolítica**

A atividade hemolítica foi ensaiada por incubação da solução de triazeno com 1% de eritrócitos (cavalo, carneiro e humano) adquirido comercialmente, as hemácias foram lavadas três vezes com PBS (solução salina de tampão fosfato), pH 7,2, foram diluídos 200µL das hemácias lavadas em 20mL de solução de PBS para preparo da suspensão, a suspensão de hemácias foi adicionada em cada tubo em seguida do STZC seguido de diluições seriadas. Como controle positivo foi utilizada 0,5ml de água destilada e 50µl de hemácias e como controle negativo foi utilizada apenas a solução de PBS com 50µl de hemácias. A atividade hemolítica foi expressa como a concentração máxima da solução de triazeno que causou hemólise.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 Triagem pelo método de Difusão em Ágar**

A STZC impregnada em discos inertes foi testada pelo método de difusão em ágar. A formação ou não de halo de inibição está apresentado na Tabela 1. Nota-se a sensibilidade das amostras de *Shigella flexineri* e *Serratia marcescens*.



**Tabela 1.** Atividade inibitória do STZC contra cepas de referência e isolados clínicos de bactérias através do teste de difusão em ágar com discos impregnados.

<b>Amostra</b>	<b>Halo de inibição (mm)<sup>1</sup></b>	<b>CN<sup>2</sup></b>	<b>CP<sup>3</sup></b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC)	0	0	30
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC)	0	0	40
<i>Shigella flexneri</i>	10,5	0	26
<i>Escherichia coli</i>	0	0	37
<i>Salmonela</i> (ATCC)	0	0	41
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0	20,5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	31,5
<i>Serratia marcescens</i> (ATCC)	12,5	0	21,5
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (ATCC)	0	0	22
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	0	41,5
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	19,5
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	27
<i>Morganella morganii</i>	0	0	40
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0	50

<sup>1</sup>Halo de inibição formado pela solução de triazeno 0,3786 g/mL;  
<sup>2</sup>Controle Negativo – álcool isopropílico a 100%;  
<sup>3</sup>Controle Positivo - Clorafenicol

Após a leitura das placas, foi possível observar a formação de halos de inibição com diâmetros superiores a 10 mm. A solução de triazeno não demonstrou atividade antimicrobiana contra algumas bactérias testadas, visto que não houve a formação de halo, conforme a Tabela 1.

Sugere-se como explicação do modo de ação desses compostos a sua capacidade quelante. Eles formariam quelatos com constituintes da parede celular, impedindo a síntese desta estrutura bacteriana. Sugere-se que a atividade antimicrobiana dos triazenos está relacionada com a presença dos grupos hidroxil e carboxil. (HÖRNER et al., 2008; PARAGINSKI et al., 2014).

Segundo Paraginski, et al. (2014) a maioria dos estudos envolvendo os compostos triazenos, a ação foi mais promissora frente a bactérias Gram-positivas. Isto pode ser explicado pelo fato de bactérias Gram-negativas possuírem uma parede celular mais complexa,



dificultando a entrada do triazeno. A parede celular das bactérias Gram-positivas possui uma camada de peptidoglicano mais espessa, no entanto, essa parede ainda é mais simples que a das bactérias Gram-negativas.

No teste de difusão em ágar verificou-se que a atividade do 1,3-bis(2-metoxi-4-nitrofenil)triazeno foi expressiva contra bactérias Gram-negativas.

### 3.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para a STZC, a menor CIM encontrada foi de 5,9 µg/mL para *Acinetobacter baumannii* e *Streptococcus agalactiae*, para as amostras de *Escherichia coli* e *Staphylococcus haemolyticus* 11,8 µg/mL, para *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella* 23,6 µg/mL e *Staphylococcus aureus* a CIM foi de 94,6 µg/mL.

**Tabela 2.** Concentração inibitória mínima *in vitro* da STZC sobre cepas bacteriana de referência e isolados clínicos

Microrganismos	CIM <sup>1</sup>	CN <sup>2</sup>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5,9	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5,9	0
<i>Escherichia coli</i> (ATCC)	11,8	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	11,8	0
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> (ATCC)	23,6	0
<i>Salmonella sp.</i>	23,6	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC)	94,6	0

<sup>1</sup>CIM em µg/mL;  
<sup>2</sup>Controle Negativo - álcool isopropílico a 100%.

Na literatura não há uma classificação consensual sobre os valores de CIM. De acordo com a pesquisa de Paraginski et al (2014) onde testou a ação antimicrobiana de 15 compostos triazenos as melhores ações bacteriostáticas e bactericidas são observadas pelos triazenos 1,3-bis(fenil-triazeno-1-óxido e 1-(4-fenildiazenil)fenil)-3-(4-carboxifenil)triazeno, ou seja, quando substituintes hidroxil e carboxil estão presentes. O 1-(4-fenildiazenil)fenil)-3-(4-carboxifenil)triazeno foi ativo para todas as cepas Gram-positivas com valores de CIMs entre



16 e 128 µg/mL. Sugere-se que o grupo carboxílico substituinte do anel aromático tenha influência positiva na atividade frente às cepas Gram-positivas.

O STZC apresentou atividade de espectro reduzido, ou seja, foi ativo em baixas concentrações frente a cepas Gram-positivas e frente a Gram-negativas. A vantagem dos antibióticos de espectro reduzido é que eles podem ser utilizados no tratamento de infecções específicas sem interferir na população bacteriana normal protetora do hospedeiro (MURRAY *et al.* 2003).

### 3.3 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Para a solução, a menor CBM encontrada foi de 5,9 µg/ml para *Acinetobacter baumannii*, e para as amostras de *Escherichia coli* e *Staphylococcus haemolyticus* 11,8 µg/ml, para *Pseudomonas aeruginosa* 23,6 µg/ml e *Staphylococcus aureus* a CBM foi de 94,6 µg/ml. A CBM determina a atividade bactericida ou bacteriostática para estas amostras. Mostrando a importância desta solução como uma possível opção terapêutica, visto que estas bactérias são de alta prevalência entre as bactérias multirresistentes encontradas em ambiente hospitalar.

**Tabela 3.** Concentração bactericida mínima *in vitro* da STZC sobre cepas de referência e isolados clínicos de bactérias.

Microrganismos	CBM <sup>1</sup>	CN <sup>2</sup>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5,9	0
<i>Escherichia coli</i> (ATCC)	11,8	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	11,8	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC)	23,6	0
<i>Salmonella sp.</i>	23,6	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	47,3	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC)	94,6	0

<sup>1</sup>CBM em µg/mL;

<sup>2</sup>Controle Negativo - álcool isopropílico a 100%;

(-) Não houve crescimento em nenhuma concentração testada.

O triazeno foi bactericida nas concentrações descritas acima, o controle negativo utilizado não apresentou interferência no teste, visto que nas mesmas concentrações do produto no álcool isopropílico houve o crescimento sendo bacteriostático, ou seja, o álcool não causa



destruição das bactérias apenas impede o crescimento, mostrando assim a efetividade de ação do produto em inibir o crescimento das bactérias.

Segundo Blatt e Miranda (2005) o agente etiológico mais comumente isolado das UTIs é a bactéria *Escherichia coli*, que é responsável por aproximadamente 40% das infecções urinárias dos pacientes hospitalizados e *Pseudomonas aeruginosa*, que são organismos mais frequentemente encontrados em infecções adquiridas em hospitais, uma vez que a resistência destes aos antibióticos favorece sua seleção em pacientes hospitalizados.

### 3.5 Teste de atividade hemolítica

O teste de hemólise faz uma avaliação preliminar da toxicidade de uma substância de forma a avaliar a viabilidade de uso do mesmo. Este ensaio permite quantificar os efeitos adversos de ingredientes isolados e de produtos acabados sobre a membrana plasmática das hemácias e a consequente liberação da hemoglobina (hemólise) (ABREU, 2008).

**Tabela 4.** Teste de atividade hemolítica *in vitro* da STZC em hemácia de cavalo e de carneiro.

	CONCENTRAÇÃO	TITULO
SANGUE DE CAVALO	23,6	(1:16)*
SANGUE DE CARNEIRO	23,6	(1:16)*

<sup>1</sup> CMH (Concentração Mínima onde não houve Hemólise) em µg/mL;

<sup>2</sup> Controle Negativo - álcool isopropílico a 100%;

\* Titulo onde não houve hemólise.

O TZC não apresentou atividade hemolítica em baixas concentrações, somente nas concentrações mais altas, se faz necessário o uso de outras técnicas para a confirmação de sua toxicidade.

## CONCLUSÃO

O triazeno 1,3-*bis*(2-metoxi-4-nitrofenil)triazeno apresentou uma atividade antimicrobiana em baixas concentrações, exibindo resultados promissores, demonstrando o potencial da atividade biológica deste composto frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, com baixos valores de CIM. A atividade hemolítica foi observada somente em concentrações altas, o TZC não apresentou toxicidade em baixas concentrações.



## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Vera Lúcia de et al . **Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução.** Quím. Nova, São Paulo , v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005

BLATT, Jucelene Marchi; MIRANDA, Maria do Carmo. **Perfil dos microrganismos causadores de infecções do trato urinário em pacientes internados.** Rev Panam Infectol, 7(4):10-14, 2005

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute, M7-A6, 2003. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi.asp>>. Acesso em: 03 de jun. 2015.

GUIMARAES, Denise Oliveira et al. **Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes.** Quím. Nova, São Paulo, Vol. 33, No. 3, 667-679, 2010

HÖRNER, Manfredo et al.,. **Triazenos e atividade antibacteriana.** Rev. Bras. Cienc. Farm, v.44, n.3, p. 441-449, 2008

KOEHLER, Eduardo Giuliani. **Avaliação de Arranjos Supramoleculares de Complexos Triazenidos de Mercúrio(II) e Cobre(II).** Disponível em: <<http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp038490.pdf>>. Acesso em: 02 jan. 2018

MURRAY, P. R. *et al.* Manual of clinical microbiology. 8. ed. Washington: ASM Press, 2003

PARAGINSKI, Gustavo Luiz et al . **Atividade antibacteriana in vitro e toxicidade frente à Artemia salina Leach. de alguns compostos triazenos.** Quím. Nova, São Paulo , v. 37, n. 7, p. 1138-1144, 2014

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; **Farmacologia**, 4a ed., Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, 2001

SANTOS, A. J. R. W. A.; **Dissertação de Mestrado.** Universidade Federal de Santa Maria, 2005

SILVEIRA, Gustavo Pozza *et al.* **Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana.** Quim. Nova, Vol. 29, No. 4, 844-855, 2006

VILLIS, P. C. M.; **Tese de doutorado.** Universidade Federal de Santa Maria], 2007.

WALSH, Christopher. **Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance.** Nature. v. 406, p. 775-781, 2000