

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**ANDRESSA AMARAL DOS SANTOS**

**ESTUDO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE COMPOSTOS DA  
CLASSE TRIAZENO: UMA REVISÃO DOS ÚLTIMOS 20 ANOS**

**CAMPO MOURÃO**

**2022**

**ANDRESSA AMARAL DOS SANTOS**

**ESTUDO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE COMPOSTOS DA  
CLASSE TRIAZENO: UMA REVISÃO DOS ÚLTIMOS 20 ANOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Licenciado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Profa. Dra. Estela dos Reis Crespan.

**CAMPO MOURÃO**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**ANDRESSA AMARAL DOS SANTOS**

**ESTUDO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE COMPOSTOS DA  
CLASSE TRIAZENO: UMA REVISÃO DOS ÚLTIMOS 20 ANOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Licenciado em Química da Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 03/fevereiro/2022

---

Estela dos Reis Crespan  
Doutora  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Marcilene Ferrari Barriquello Consolin  
Doutora  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Daniela Aline Barancelli  
Doutora  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**CAMPO MOURÃO**

**2022**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre esteve ao meu lado me dando forças, me guiando e me confortando durante toda esta caminhada.

Aos meus pais Alacir e Aparecida e ao meu irmão Alan pelo amor, carinho e incentivo nos momentos difíceis.

Aos meus maravilhosos professores por toda dedicação, afeto, amor e incentivo, em especial aos professores Daniela, Gustavo, Letícia, Marcilene e Peron que sempre estiveram dispostos a ajudar e por contribuírem significativamente com meu aprendizado. Vocês são demais! Levarei para sempre em meu coração.

A minha querida, adorável e admirável orientadora, prof Estela, por todo carinho, dedicação, paciência e principalmente pelos puxões de orelha que me fizeram amadurecer profissionalmente. Obrigado pelo apoio, ensinamentos e conhecimentos transmitidos. Você é luz por onde passa! Você estará sempre em meu coração.

Aos meus queridos amigos, Ana Carolina, Arsângela, Danielle, Kamila e Vinícius, pela amizade, carinho, companheirismo, paciência e apoio. Da UTFPR para a vida.

A minha sobrinha e afilhada Isabela, por todo carinho, abraços apertados e pelas palavras educadas e gentis e principalmente por trazer mais doçura e leveza a minha vida. Minha pequena a madrinha te ama!

Ao meu marido Anderson, pelo amor, carinho e paciência durante estes longos anos. Por compreender minha ausência e os dias difíceis. Você sempre me deu forças e segurou minhas mãos para que eu não desistisse e chegasse até aqui. Meu amor está conquistado também é sua. Sou eternamente grata a você! Te amo meu bem.

E a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

“O caminho é longo, mas a vitória é certa”.

## RESUMO

Atualmente a resistência bacteriana é um dos problemas mais preocupantes à saúde pública, visto que poucos agentes antimicrobianos são eficazes no tratamento de infecções causadas por microrganismos resistentes assim limitando o uso clínico de antibióticos. No entanto com o aumento da resistência bacteriana há uma grande necessidade dos pesquisadores na descoberta por novos medicamentos com potencial antibacteriano. Desta forma os compostos da classe triazeno vêm demonstrando-se como uma classe promissora de fármaco, com significativa atividade antimicrobiana e antitumoral. Diante deste contexto o presente trabalho realizou um levantamento bibliográfico descritivo de trabalhos envolvendo compostos da classe triazenos que apresentam propriedades antibacterianas dos últimos 20 anos, elaborado a partir de uma revisão da literatura tendo como ferramenta norteadora trabalhos já publicados nas bases de dados, BiblioTec, Google Acadêmico, Periódico Capes e Scielo, no período entre 2001 a 2021. Os resultados dos trabalhos analisados mostraram que a maior parte dos compostos triazenos apresentaram atividade antibacteriana principalmente os que apresentaram os substituintes hidroxila e carboxila em suas estruturas. Portanto, com esta pesquisa foi possível identificar a necessidade de estudar os compostos triazenos pois, apresentaram ser uma classe promissora antibacteriana conforme os trabalhos analisados.

Palavras-chaves: triazenos; atividade antibacteriana; resistência; infecção.

## **ABSTRACT**

Currently, bacterial resistance is one of the most worrying problems for public health, since few antimicrobial agents are effective in the treatment of infections caused by resistant microorganisms, thus limiting the clinical use of antibiotics. However, with the increase in bacterial resistance, there is a great need for researchers to discover new drugs with antibacterial potential. Thus, the triazene class compounds have shown themselves as a promising drug class, with significant antimicrobial and antitumor activity. In this context, the present work carried out a descriptive bibliographic survey of works involving compounds of the triazene class that have antibacterial properties from the last 20 years, prepared from a literature review having as a guiding tool works already published in the databases, BiblioTec, Google Academic, Periodical Capes and Scielo, in the period between 2001 and 2021. The results of the analyzed works showed that most of the triazene compounds showed antibacterial activity, especially those that presented the hydroxyl and carboxyl substituents in their structures. Therefore, with this research it was possible to identify the need to study the triazene compounds as they showed to be a promising antibacterial class according to the works analyzed.

**Keywords:** triazenes; antibacterial activity; resistance; infection.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação estrutural de triazenos monocatenados .....	11
Figura 2 - Representação da estrutura do composto 1,3-bisfeniltriazeno (1) .....	14
Figura 3 - Representação estrutural das moléculas, Dacarbazina (2) e Temozolomida (3) .....	15
Figura 4 - Representação estrutural do 1,4-di [(E) -2- (p- tolil) -1-diazenil]piperazina (4) .....	17
Figura 5 - Esquema da reação de formação dos compostos da classe triazenos monocatenados a partir de uma reação de diazotação com nitrito de sódio. Onde: R1 = R2 – Triazeno simétrico; R1 ≠ R2 – Triazeno assimétrico .....	18
Figura 6 - Esquema da reação de obtenção dos compostos da classe triazenos monocatenados. (a) Síntese com o nitrito de sódio e (b) Síntese com nitrito isoamílico .....	18
Figura 7 – Esquema geral de síntese de triazenos por reação de acoplamento entre reagente de Grignard e arilazida.....	19
Figura 8 - Representação estrutural de compostos da classe triazenos.....	20
Figura 9 - Representação estrutural de compostos da classe triazenos.....	21
Figura 10 - Espectros na região do ultravioleta e visível para diferentes compostos triazenos e para o 1,3-bis(fenil)triazeno. Destaca-se as concentrações para a confeção dos espectros (9) ( $1 \times 10^{-5}$ mol.L <sup>-1</sup> ) e (10) ( $5 \times 10^{-5}$ mol.L <sup>-1</sup> ) .....	22
Figura 11 - Representação estrutural de compostos 1,3-bis-(fenil)triazeno-1-N-hidróxido (13) e o 1-(4-carbóxilfenil)-(3-azofenil) (18).....	25
Figura 12 - Representação estrutural de compostos mais ativos descritos por Hörner <i>et al.</i> (2008).....	27
Figura 13 - Representação estrutural do composto 1-(2-flúorfenil)-3-(4- acetilfenil)triazeno (23).....	28
Figura 14 - Representação estrutural dos compostos (24) e (25) .....	28
Figura 15 - Representação estrutural de compostos mais ativos descritos por Paraginski <i>et al.</i> (2014).....	31
Figura 16 - Placas com discos já embebidos das soluções de 1-(4-nitrofenil)-3-(2,4- dinitrofenil)triazeno (a) e o 1,3-bis(2,4-dinitrofenil)triazeno (b) frente a bactéria <i>E. coli</i> .....	33
Figura 17 - Placas com discos já embebidos das soluções de 1-(4-nitrofenil)-3-(2,4- dinitrofenil)triazeno (a) e o 1,3-bis(2,4-dinitrofenil)triazeno (b) frente a bactéria <i>S. aureus</i> .....	33
Figura 18 - Imagem da placa de petri contendo ágar Muller-Hinton com diferentes antibióticos inibindo o crescimento ou não das bactérias de <i>Escherichia coli</i> (a) e <i>Staphylococcus aureus</i> (b) .....	34
Figura 19 - Representação estrutural dos compostos (36), (37) e (38).....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATCC	American Type Culture Collection
CBM	Concentração bactericida mínima
CIM	Concentração inibitória mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTIC	Dacarbazina
ESBL	Beta-lactamases de espectro estendido
GN	Gram-Negativa
GP	Gram-Positiva
HUSM	Hospital Universitário de Santa Maria
KPS	Klebsiella pneumoniae Carbapenemase
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
Ppm	Partes por milhão
RMD	Resistência à múltiplas drogas
RMN-H <sup>1</sup>	Ressonância Magnética Nuclear de prótons
TZC	Triazenos
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria
UV-vis	Ultravioleta visível



## LISTA DE SÍMBOLOS

Å	Angstrom
$\delta$	Deslocamento químico
$\pi$	Pi
H	Hidrogênio
mL	Mililitro
N	Nitrogênio
Nm	Nanômetro

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>12</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>12</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>13</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>14</b>
<b>4.1</b>	<b>Compostos da classe triazenos.....</b>	<b>14</b>
<b>4.2</b>	<b>Rotas de síntese para a obtenção dos compostos da classe triazenos.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3</b>	<b>Principais métodos de caracterização de compostos da classe triazenos .....</b>	<b>19</b>
<b>4.4</b>	<b>Resistência bacteriana.....</b>	<b>22</b>
<b>4.5</b>	<b>Potencial antibacteriano dos compostos da classe triazenos .....</b>	<b>24</b>
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>37</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>38</b>

## 1 INTRODUÇÃO

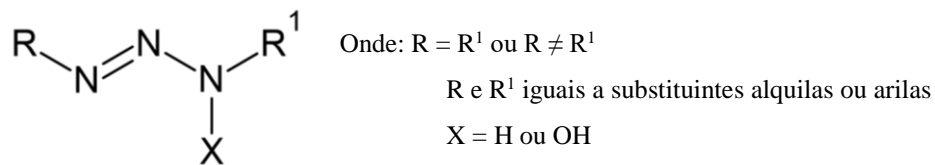
Há algum tempo a Organização Mundial da Saúde (OMS) apresentou um estudo em que descreve a resistência aos antimicrobianos como uma grande ameaça global à saúde pública, desta forma chegando em um período pós-antibiótico no qual as pessoas morrerão de infecções bastante comuns (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2014). A resistência bacteriana aos antibióticos trata-se de um dos problemas à saúde pública mais preocupantes na atualidade. Em 2004 foi realizado um estudo por economistas britânicos onde dizia que dez milhões de mortes ocorrerão em 2050 devido à resistência microbiana e desta forma o impacto será grande na economia mundial, ou seja, de aproximadamente cem trilhões de dólares. (OLIVEIRA; PEREIRA; ZAMBERLAM, 2020).

Com o aparecimento de bactérias resistentes limita-se o uso clínico de antibióticos e a preocupação de que estes se tornem ineficazes a estes patógenos aumentam cada vez mais. A resistência microbiana tem crescido rapidamente em todos os âmbitos mas, especialmente no ambiente hospitalar e estes microrganismos são capazes de se adaptarem geneticamente à ação de antibióticos utilizados nos tratamentos de infecções e possibilita que doenças avancem cada vez mais sobre a população (SOARES; GARCIA, 2020).

Diante disto, outra doença avassaladora e que ameaça a saúde pública são as doenças neoplásicas que atualmente é a principal causa de morte no mundo. Estima-se que o número de câncers diagnosticados aumente 80% nos países em desenvolvimento e 40% nos países desenvolvidos entre 2008 e 2030. Contudo mesmo que os tratamentos tenham evoluído e desta forma aumentando a esperança de vida dos pacientes, alguns tumores continuam apresentando baixas taxas de sobrevivência e alta taxa de mortalidade como os tumores do cérebro, sistema nervoso central e melanoma. (FERREIRA, 2019). O câncer é um conjunto de doenças que tem em comum o crescimento desordenado e incontrolável de células anormais assim interrompendo a organização estrutural dos vários tecidos e órgãos e por consequência comprometendo suas funções fisiológicas, esta doença pode espalhar para diferentes partes do corpo comprometendo o funcionamento de vários órgãos. É caracterizada pelo acúmulo de alterações genéticas em um grupo de células que por muito tempo se mantêm silenciosas. Por este fato trata-se de uma doença de difícil diagnóstico nos seus estágios iniciais e quando atinge os estágios mais avançados e os sintomas começam aparecer a doença reduz as chances do tratamento devido ao grau de complexidade da doença. O prognóstico dos pacientes após o diagnóstico é muito baixo, podendo ser de poucas semanas (SILVA, 2016).

Portanto há uma grande necessidade na descoberta de novas substâncias ativas e no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para o tratamento dos diversos tipos de cânceres bem como no tratamento de inúmeras infecções. Desta forma, a busca por novos medicamentos com potencial farmacológico se tornou essencial e os compostos da classe triazeno constituem uma classe promissora de fármaco, com significativa atividade antimicrobiana e antitumoral (NUNES, 2014). Diante disto, os triazenos (TZC) são compostos orgânicos pertencentes à família dos sistemas nitrogenados, caracterizados por uma cadeia alifática constituída de três átomos de nitrogênio ligados em sequência ( $-N=N-N(H)-$ ) (PARAGINSKI *et al.*, 2014) conforme mostra a Figura 1, constituindo uma classe de compostos químicos que possuem uma diversificada e comprovada atividade biológica (HÖRNER *et al.*, 2008).

**Figura 1 - Representação estrutural de triazenos monocatenados**



**Fonte: Crespan (2009, p. 29).**

Os triazenos surgiram como ponto de partida para uma investigação química e farmacológica que desse origem a novos compostos mais eficientes, diante da diversidade de ações biológicas destes compostos e uma das utilizações mais conhecidas, é o seu predomínio no avanço das moléculas cancerígenas (ÜNSALAN *et al.*, 2011), além de serem excepcionalmente explorados em virtude do seu potencial antimicrobiano, principalmente frente a bactérias gram-positivas e a bactérias gram-negativas e atividade antifúngica frente a fungos leveduriformes e filamentosos (CHAUHAN *et al.*, 2010). Desta forma, os triazenos são um dos seis principais agentes alquilantes que são utilizados no tratamento das doenças neoplásicas, dentre eles, observa-se a dacarbazina e a temozolamida (BONMASSAR, *et al.*, 2013; CHABNER *et al.*, 2012). Neste contexto o presente trabalho busca fazer uma revisão envolvendo compostos triazenos com propriedade antibacteriana descritos na literatura nos últimos 20 anos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Este trabalho tem por objetivo realizar um levantamento bibliográfico descritivo de trabalhos envolvendo compostos da classe triazenos que apresentem propriedades antibacterianas dos últimos 20 anos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Apresentar questões históricas e conceituais relacionadas aos compostos da classe triazenos como: primeiros compostos sintetizados, classificação, principais rotas de síntese e características gerais;
- Realizar um levantamento dos trabalhos publicados nos últimos 20 anos (2001-2021) que apresentem estudos envolvendo propriedades antibacterianas, descrevendo a síntese e a caracterização dos compostos da classe triazenos;
- Dentro dos trabalhos estudados fazer um levantamento dos dados relacionados ao potencial antibacteriano.

### 3 METODOLOGIA

Este trabalho foi elaborado a partir de uma revisão da literatura tendo como ferramenta norteadora trabalhos já publicados, envolvendo o tema compostos da classe triazenos, nas bases de dados BiblioTec, Google Acadêmico, Periódico Capes e Scielo, no período entre 2001 a 2021. Foi utilizado a palavra-chave “triazenos antibacterianos” e sua correspondente em inglês “antibacterial triazene”. Desta forma somando-se todas as bases de dados foram selecionados artigos, trabalhos de conclusão de curso, dissertações e teses.

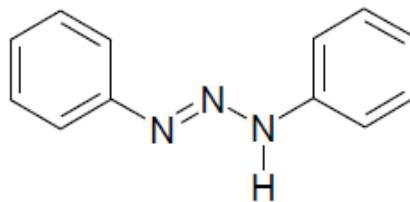
Ao todo foram selecionados 8 trabalhos, os quais são apresentados em função das propriedades antibacterianas, apresentada pelos compostos discutidos. A análise deste trabalho ocorreu em etapas, considerando primeiro as rotas de síntese e caracterizações dos compostos, seguindo do levantamento relacionado à propriedade antibacteriana.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Compostos da classe triazenos

Triazenos são compostos químicos de cadeia aberta contendo três átomos de nitrogênio consecutivos e foram descobertos em meados do século XIX. Inicialmente eram usados como formas estabilizadoras de compostos diazo para obtenção de corantes de fibras, mais tarde foram usados para tingir plásticos, nylon e acetato de seda, como iniciadores para a polimerização de compostos insaturados e como reagentes analíticos para cátions metálicos, foram também destinados para aplicação em preparações de inseticidas, herbicidas, repelentes e fungicidas (CAPUCHA, 2010). Contudo, o primeiro triazeno, o 1,3 -bisfeniltriazeno (1) (Figura 2) foi sintetizado em 1859 por Peter Griess, a partir da anilina (GRIESS, 1859).

**Figura 2 - Representação da estrutura do composto 1,3-bisfeniltriazeno (1)**



**Fonte: Crespan (2009, p. 30).**

No entanto, no início da década de 60 foi descoberto a atividade antitumoral e anti-metastático dos compostos 3,3-dimetiltriazenos contra certos tumores e foi na sequência que o interesse sobre os triazenos aumentaram (ROSA, *et al.*, 1992; NIFONTOV, *et al.*, 1993). Desta forma, os fármacos que são utilizados no tratamento do câncer tanto de origem sintética como natural foram descobertos entre os anos 1950 e 1970 por meio de testes em animais (CHABNER; ROBERTS, 2005; BRUTON; CHALNER; KNOLLANN, 2012). No ano de 1956 pesquisadores já compreendiam que os compostos triazenos eram ativos para alguns tipos de leucemia para os quais existia resistências as terapias comuns da época, assim, em pesquisas realizadas em 1986 verificou-se que estes agentes alquilantes conseguiam agir nas guaninas do genoma (MATTES; HARTLEY; KOHN, 1986). Diante disto, alguns agentes alquilantes que são utilizados no tratamento dos diferentes tipos de cânceres são: cisplatina, dacarbazina, temozolomida, meclometamina, clorambucil, melfalana, bussulfan e Thiotepa<sup>®</sup>.

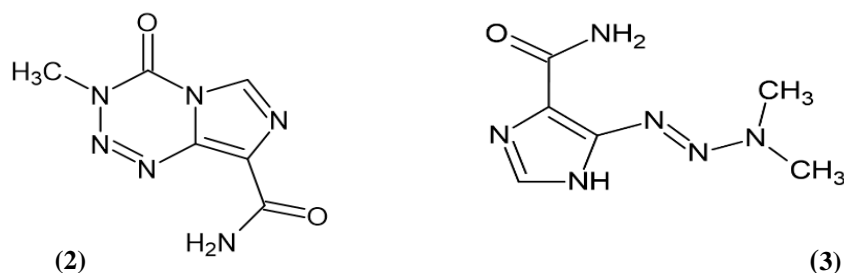
Portanto, o primeiro triazeno comercialmente utilizado como antineoplásico foi o 5-(3,3-dimetil-1-triazeno)imidazol-4-carboxiamida comercializado como Dacarbazina<sup>®</sup> e foi

sintetizado em 1960 por Montgomery, Krauth e Shealy. Outro composto utilizado no tratamento do câncer é o (3-metil-4-oxo-3,4- dihidroimidazol[5,1-d] [1,2,3,5] tetrazina-8-carboxiamida), comercializado como Temozolamida® (KEMPFER, 2013).

A princípio a Dacarbazina foi classificada como um antimetabólito mas por atuar por meio da alquilação do DNA foi classificada como agente alquilante. A DTIC é sensível a luz e sofre rapidamente fotodecomposição e é sensível também a oxidação pelo citocromo P-450, tornando-se está uma das formas de ativação desse agente, ou seja, este fármaco precisa ser ativado à princípio pelo citocromo P-450 no fígado no decorrer de uma reação de N-desmetilação no momento que atinge a célula alvo acontece clivagem autêntica do metabólito que permite um componente alquilante chamado diazometano (BRUTON; CHALNER; KNOLLANN, 2012). A dacarbazina após sofrer estímulo metabólito no fígado destrói as células sejam elas em qual for o estágio do ciclo celular e sua principal utilização é em um melanoma metastático e também consegue ser conciliada com outros medicamentos para mediação de outros cânceres. (KATZUNG; TREVOR, 2017). Portanto a temozolomida não precisa de estímulo metabólito para modificar-se no agente metilante citotóxico ou conformação ativa alquilante. Isto ocorre em pH fisiológico e ele atua em todas as etapas do circuito celular e sua principal utilização é em tumores malignos. Assim foi o primeiro medicamento aprovado em 30 anos para uso especialmente no tratamento de astrocinoma anaplásico e glioblastoma multiforme que geralmente reaparecem ou aumentam após o tratamento (RODRIGUES, 2013).

A dacarbazina é comercializada como FAULDACAR®, e é utilizada em pacientes com melanoma maligno metastático, ou seja, é um tipo de câncer de pele agressivo e mortal que se espalha pelos órgãos e pelos tecidos do corpo e a temozolomida é comercializada como TEMODAL® é usada em pacientes que apresentam um tipo de glioma de alto grau que é uma espécie de câncer cerebral (SOUZA, 2018). A estrutura molecular da Dacarbazina e Temozolomida estão representadas na Figura 3 a seguir.

**Figura 3 - Representação estrutural das moléculas, Dacarbazina (2) e Temozolomida (3)**



Fonte: Souza (2018, p. 14).



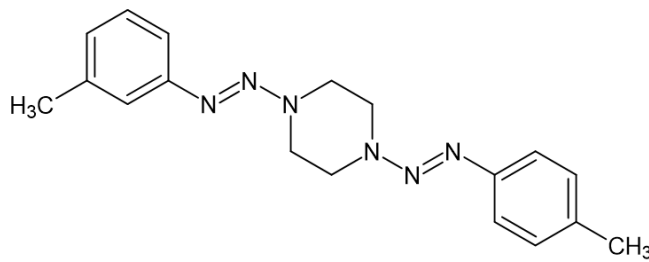
Desde Griess, busca-se obter derivados do 1,3-bisfeniltriazeno, principalmente por estes compostos nitrogenados apresentarem uma química estrutural bastante rica, o que impulsionou o crescimento considerável dos estudos voltados à aplicação de suas propriedades em diferentes áreas que vão desde à catálise organometálica (BRASË *et al.*, 2002) síntese orgânica em fase sólida (LAZNY; NODZEWSKA; KLOSOWSKI, 2004), a síntese orgânica em reações de esterificação, ciclizações (BUTTLER; SHELLY, 1986); (ENDERS *et al.*, 2004) e principalmente pelas suas notórias propriedades antineoplásicas (CAPORASO *et al.*, 2007; SANADA, 2004; ALMEIDA *et al.*, 2005), antifúngicas (CHAUHAN *et al.*, 2010) e antibacterianas (CHAUHAN *et al.*, 2010; OMBAKA; MUGUNA; GICHUMBI, 2012).

A partir de alguns estudos observa-se que a cadeia nitrogenada apresenta uma configuração *trans* (MOORE; ROBISON, 1986) e a distância da ligação mais curta entre N1 e N2, fica próxima de 1,27-1,28 Å e a ligação mais longa 1,32-1,33 Å. Estes valores encontrados experimentalmente apresentam-se diferenciados dos valores padrões para uma ligação simples N–N (1,44 Å) e dupla N=N (1,24 Å) devido à deslocalização de elétrons  $\pi$  na molécula, denotando um caráter  $sp^2$  para as ligações entre N1, N2 e N3 (CRESPAN, 2009). O hidrogênio ligado ao nitrogênio  $sp^2$  da cadeia pode ainda ser substituído pelo grupamento hidroxila, originando os chamados hidroxitriazenos, ampliando as possibilidades de investigação de suas propriedades e dos complexos por eles formados.

Observa-se que compostos como os da classe triazenos, que apresentam alta densidade eletrônica concentrada sobre alguns átomos, tendem a possuir baixa estabilidade, e a presença de substituintes (alifáticos ou aromáticos que contenham grupamentos nitro, halogênios, carboxílicos, nas diferentes posições *orto*, *meta* e *para*) nos nitrogênios terminais da cadeia acabam contribuindo para uma maior deslocalização eletrônica através dos efeitos indutivos e/ou mesoméricos, tornando-os mais estáveis (CRESPAN, 2009).

Além dos compostos triazenos monocatenados como o 1,3-bisfeniltriazeno, encontram-se descritos na literatura compostos com múltiplas cadeias nitrogenadas, conhecidos como multicatenados conforme pode-se observar na Figura 4 na estrutura proposta por Vaughan *et al.* (2010), onde é possível observar que estes compostos não possuem grupos N-H desprotonáveis.

**Figura 4 - Representação estrutural do 1,4-di [(E) -2- (p- toli) -1-diazenil]piperazina (4)**



**Fonte: Vaughan *et al* (2010, p. 808).**

Apesar dos compostos triazenos fazerem parte de uma classe de agentes antitumorais com enorme interesse clínico ainda não são muito usados na prática. A chance de ampliar o tratamento com os compostos triazenos mesmo com seu alto teor de ação em doenças neoplásicas é suportado e isto se deve por diversas razões, sendo uma delas a vulnerabilidade na mira das células cancerígenas, que é capaz de ser previsto com o apoio no julgamento dos sistemas de reparo do DNA relacionados com as doenças graves (MARCHESI *et al.*, 2007). “Uma diversidade de atrocidades, englobando as de naturalidade hematopoiética, receptivas ou resistentes à quimioterapia tradicional, são possivelmente vulneráveis aos triazenos” (SOUZA, 2018, p. 25).

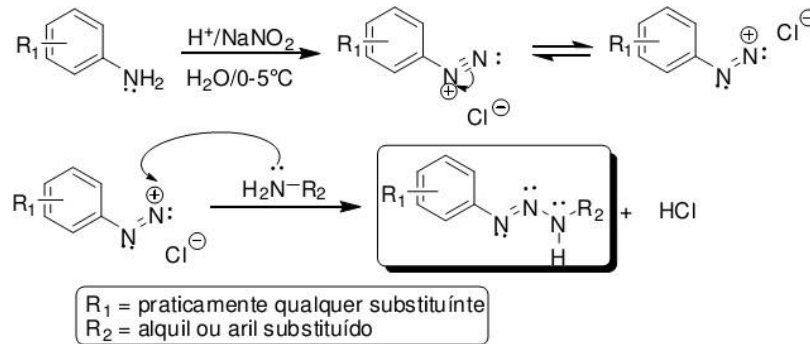
#### **4.2 Rotas de síntese para a obtenção dos compostos da classe triazenos**

No que diz respeito aos métodos de obtenção dos compostos da classe triazenos, observa-se três rotas sintéticas mais comuns descritas na literatura. Uma delas envolve o acoplamento de um sal de diazônio com uma amina aromática livre primária ou secundária, em pH específico e a baixa temperatura, podendo gerar espécies monocatenadas simétricas e assimétricas (HARTMAN, 1943).

A primeira etapa da rota sintética de compostos triazenos monocatenados, chamada de diazotação, envolve a conversão de uma amina primária ou secundária em um sal de diazônio através do nitrito de sódio que atua como agente de nitroação. A reação exige sempre um controle do pH (ácido), assim como o controle da temperatura, a qual deve estar entre 0-5°C para evitar a hidrólise do sal de diazônio levando a formação de fenol e dióxido de nitrogênio. Após esta etapa, ocorre o auto-acoplamento/acoplamento da amina ao sal de diazônio, onde ao ser idêntica a primeira forma triazenos simétricos e quando for diferente forma triazenos assimétricos (Figura 5). Após a reação o composto formado precipita e o meio é neutralizado

para pH entre 6 e 7 para melhor precipitação do produto, o qual pode ser separado por filtração (BROCH, 2013).

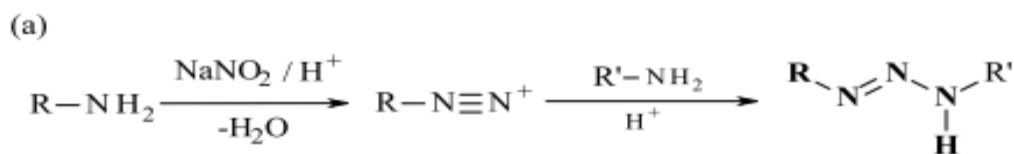
**Figura 5 - Esquema da reação de formação dos compostos da classe trizenos monocatenados a partir de uma reação de diazotação com nitrito de sódio. Onde: R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> – Triazeno simétrico; R<sub>1</sub> ≠ R<sub>2</sub> – Triazeno assimétrico**



Fonte: Broch (2013, p. 62).

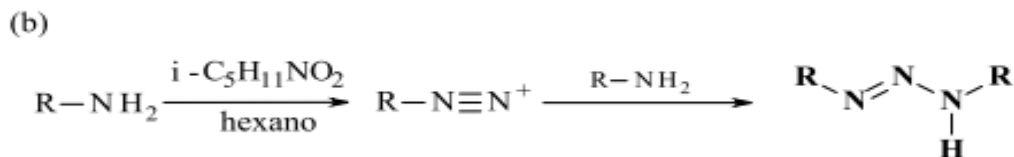
Outra rota de síntese para trizenos simétricos envolve a utilização de nitritos alquílicos como agentes de nitrosação, em solvente orgânico e a temperatura ambiente. Vernin *et al.* (1977) utilizam quantidades equivalentes de nitrito isoamílico (ou 3-metilbutilnitrito), e amina, em meio aprótico, conforme pode ser observado na Figura 6 descrito por (GIGLIO, 2011).

**Figura 6 - Esquema da reação de obtenção dos compostos da classe trizenos monocatenados. (a) Síntese com o nitrito de sódio e (b) Síntese com nitrito isoamílico**



Onde R = R' – Triazeno Simétrico

R ≠ R' – Triazeno Assimétrico



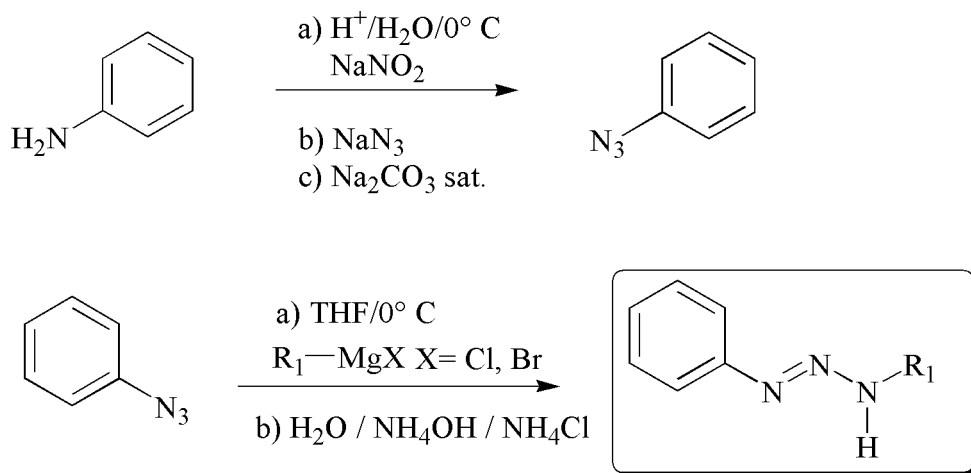
Fonte: Giglio (2011, p. 32).

Ainda é possível obter compostos trizenos a partir de uma reação de Grignard na qual a síntese ocorre entre azidas aromáticas e um reagente de Grignard (RMgX, onde X = Br, Cl)

seguido de uma hidrólise. A primeira síntese descrita utilizando este método foi descrita por Dimroth (1903) envolvendo a fenilazida e o reagente de Grignard (preparado a partir de magnésio e bromobenzol em presença de éter anidro) e tendo como produto formado o 1,3-difeniltriazeno.

Na maioria destas sínteses utiliza-se como solvente o tetrahydrofurano ou o éter dietílico, ambos anidros. Uma das etapas importantes da síntese é a formação de um complexo triazenido intermediário, na forma de um sal de magnésio que sofre hidrólise na presença de um tampão de  $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_4\text{OH}$ . Posteriormente o produto formado deve ser extraído com um solvente orgânico (Figura 7). Salienta-se que este método é bastante indicado para obtenção de triazenos multicaténados, pois o complexo intermediário permanece solúvel no meio reacional anidro, o que não ocorre na síntese por diazotação em meio ácido. Também pode ser utilizado na síntese de triazenos dialquil substituídos, ao contrário do método através da diazotação em meio ácido (BROCH, 2013).

**Figura 7 – Esquema geral de síntese de triazenos por reação de acoplamento entre reagente de Grignard e arilazida**



Fonte: Broch (2013, p. 63).

### 4.3 Principais métodos de caracterização de compostos da classe triazenos

Os compostos da classe triazenos são caracterizados por diferentes técnicas de análise, entre elas a Espectroscopia vibracional na região do infravermelho, a Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton e a Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível já que estas trazem informações importantes e bem características dos átomos e das ligações presentes na cadeia nitrogenada, assim como também pelos demais grupamentos

substituintes presentes.

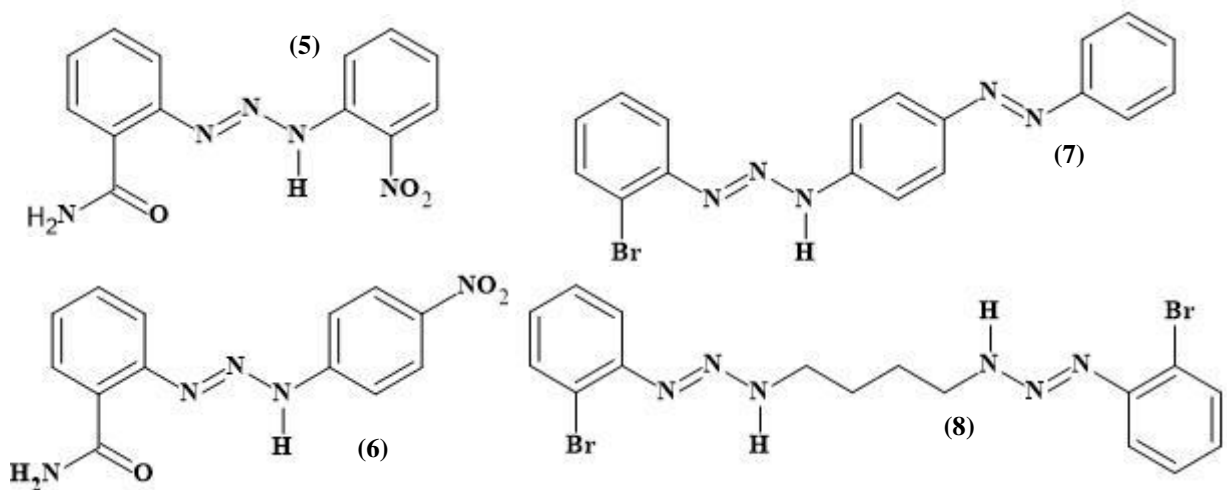
Para a Espectroscopia vibracional na região do infravermelho é possível observar bandas de absorção na região de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , as quais estão relacionadas aos estiramentos N-H, N=N e N-N assim como aos substituintes terminais ligados a cadeia diazoamínica. A alta deslocalização eletrônica da cadeia acaba atribuindo valores mais baixos para as frequências de estiramento quando comparadas a outros compostos que possuem duplas ligações entre átomos de nitrogênio em suas estruturas. A Tabela 1 a seguir, reúne as bandas de absorção relacionadas a cadeia diazoamínica de alguns dos compostos triazenos relatados por Behm (2010) e Broch (2013). A Figura 8 apresenta as representações estruturais destes compostos.

**Tabela 1 - Frequências ( $\text{cm}^{-1}$ ) dos modos vibracionais, presentes na região de infravermelho, para diferentes compostos triazenos**

Composto	$\nu_{\text{as}}\text{N}=\text{N}$	$\nu_{\text{s}}\text{N}-\text{N}$	$\nu\text{N}-\text{H}$	Referência
(5) 1-(2-amidofenil)-3-(2-nitrofenil)triazeno	1437	1198	3295	Behm (2010)
(6) 1-(2-amidofenil)-3-(4-nitrofenil)triazeno	1432	1200	3214	
(7) 1-(2-bromofenil)-3-(4-fenildiazenil)-triazeno	1418	1139	3290	Broch (2013)
(8) 1,4-bis(2-bromofeniltriazenido)butano	1468	1155	3330	

Fonte: Behm (2010); Broch (2013).

**Figura 8 - Representação estrutural de compostos da classe triazenos**



Fonte: Behm (2010, p. 52 e 53); Broch (2013, p. 84 e 89).

As análises dos compostos triazenos envolvendo a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de prótons ( $\text{RMN}-\text{H}^1$ ) mostram o registro gráfico das frequências dos picos de absorção contra suas intensidades e da mesma forma que a espectroscopia de infravermelho

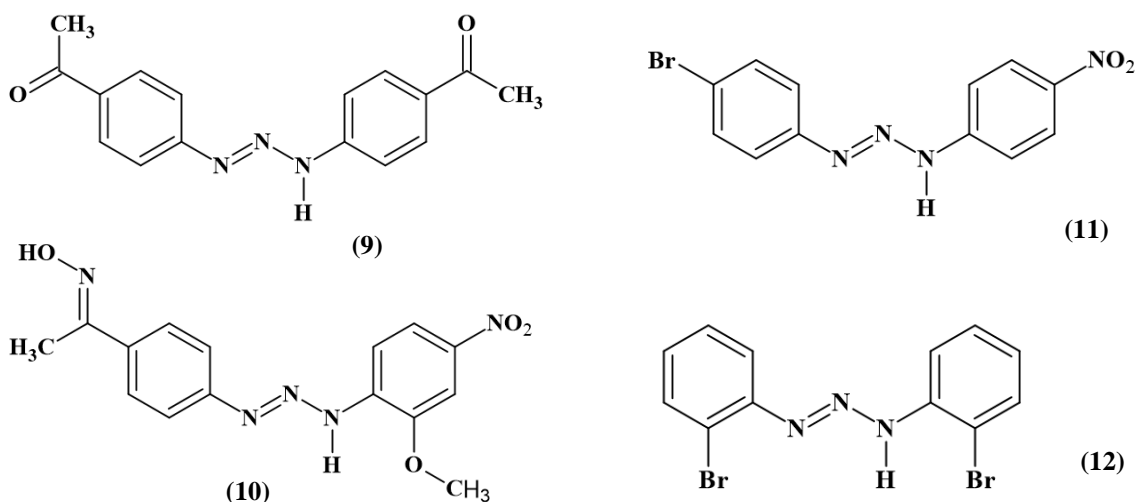
essas informações são resultado direto das características estruturais da amostra. A Tabela 2 apresenta o deslocamento referente ao próton ligado a cadeia diazoamínica de diferentes compostos triazenos relatados na literatura, sendo possível observar que os deslocamentos ficam na região próxima a 11,00 -12,00 ppm (singlete) para os triazenos e a Figura 9 representa a estrutura para alguns compostos já relatados na literatura (GIGLIO, 2011), (PARAGINSKI *et al.*, 2014).

**Tabela 2 - Deslocamentos, em ppm, observados no RMN  $H^1$  de alguns compostos descritos na literatura**

Composto	$\delta$ N-H	Referência
(9) 1,3-bis(4-acetilfenil)triazeno	12,9	Giglio (2011)
(10) 1-(3-fenil-acetofenona oxima)-3-(2-metóxi-4-nitrofenil)triazeno	12,2	
(11) 1-(4-bromofenil)-3-(4-nitrofenil)triazeno	11,92	Paraginski <i>et al.</i>
(12) 1,3-bis(2-bromofenil)triazeno	11,80	(2014)

Fonte: Giglio (2011); Paraginski *et al.* (2014).

**Figura 9 - Representação estrutural de compostos da classe triazenos**

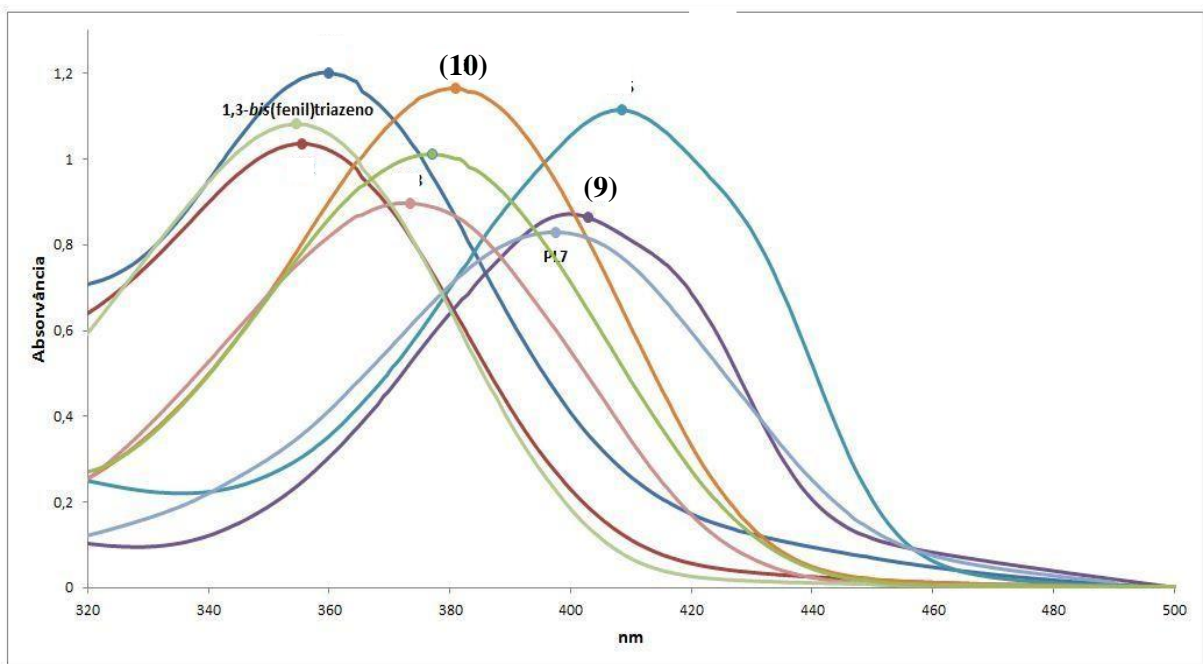


Fonte: Giglio (2011, p. 53); Paraginski *et al.* (2014, p. 1139).

Segundo Giglio (2011) os compostos triazenos apresentam absorções na região do visível típicas relativas às transições  $n \rightarrow \pi^*$  atribuídas ao grupo diazoamínico ( $N=N$ ), transições  $n \rightarrow \sigma^*$  atribuídas a cadeia diazoamínica  $-N-N=N(H)$  além de transições características aos anéis aromáticos do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$ . O máximo de absorção dos triazenos fica entre 300 e 450 nm, dependendo do tipo de substituintes ligados aos anéis fenila, considerando que está banda

pode ser alargada devido a um conjunto de outras bandas que estão sobrepostas sendo atribuídas às transições de transferência de carga interna  $n \rightarrow \pi^*$  e/ou  $\pi \rightarrow \pi^*$ . A Figura 10 mostra o perfil dos espectros Uv-vis sobrepostos para os compostos relacionados e para 1,3-bis(fenil)triazeno destacando os compostos 1,3-bis(4-acetilfenil)triazeno (9) e 1-(3-fenilacetofenona oxima)-3-(2-metóxi-4-nitrofenil)triazeno (10) apresentados anteriormente na Figura 9.

**Figura 10 - Espectros na região do ultravioleta e visível para diferentes compostos triazenos e para o 1,3-bis(fenil)triazeno. Destaca-se as concentrações para a confecção dos espectros (9) ( $1 \times 10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup>) e (10) ( $5 \times 10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup>)**



Fonte: Adaptado de Giglio (2011).

#### 4.4 Resistência bacteriana

A descoberta dos antibióticos marcou uma grande conquista na medicina, com a descoberta da penicilina na década de 20 e da sulfonamida na década de 30, representando um grande avanço no tratamento de doenças infecciosas e por consequência diminuindo a taxa de mortalidade, por este motivo a busca por novas drogas se tornou intensa e a produção de novos antibióticos marcaram as décadas seguintes (ROCHA *et al.*, 2011). No entanto as bactérias criaram mais resistências frente aos fármacos que tem como finalidade combater as infecções causadas por bactérias, destruindo partes específicas delas. Portanto para que essas bactérias sobrevivassem ao ataque, as mesmas criam resistência ou se adaptam aos fármacos. “A resistência

bacteriana aos antibacterianos comercialmente disponíveis aumenta cada vez mais, principalmente em cepas Gram-negativas” (PARAGINSKI *et al.*, 2014).

Para Andrade (2006):

Desde a introdução do mais antigo antimicrobiano até o mais recente, vem se registrando uma pressão seletiva dos microrganismos causada, principalmente, pelo uso indiscriminado de antibióticos e quimioterápicos, resultando no desenvolvimento de espécies resistentes (ANDRADE, 2006, p. 28).

O uso incorreto de medicamentos antibacterianos faz com que as bactérias se tornem mais resistentes, sendo capazes de desenvolver mecanismos de resistência contra os medicamentos, estes mecanismos criam resistência na forma de transferência horizontal de genes, mutações cromossômicas, bombas de efluxo de drogas, entre outras (SOUSA, 2013). No ano de 2010 ocorreu no país vários casos de infecção hospitalar causado pela bactéria *Klebsiella pneumoniae Carbapenemase*, KPC, conhecida como superbactéria por se tratar de uma bactéria muito resistente frente à vários antibióticos. Está resistência é devido a fatores ambientais que influenciam na seleção natural dos microrganismos. As bactérias que sobrevivem se tornam mais resistentes e habituadas ao ambiente. As bactérias patogênicas são aquelas que causam doença, o corpo do hospedeiro é o ambiente, o uso de antibiótico neste ambiente faz com que muitas ou todas bactérias patogênicas morram. No entanto devido as características genéticas que são diferenciadas algumas bactérias podem sobreviver e desta forma ao se reproduzirem resultam nova cepas da classe que tornou resistente frente ao antibiótico em pauta. Quando iniciou-se a utilização do antibiótico penicilina G toda as espécies de *Staphylococcus aureus* eram sensíveis a eles, anos depois grande parte das infecções hospitalares eram causadas por essa bactéria (CRESPAN *et al.*, 2015).

Num cenário global, a resistência bacteriana apresenta implicações diretas na segurança do paciente pois, prolonga sua estadia no hospital, bem como, aumenta as chances de readmissão hospitalar e também do uso de antibióticos de espectro estendido e por fim o risco de evoluir à óbito, devido à ausência de alternativas terapêuticas. Um estudo realizado pela OMS apresentou que a resistência bacteriana pode ser considerada uma epidemia com graves consequências e demonstraram que a partir de 2050 será responsável pela morte de aproximadamente dez milhões de pacientes a cada ano (MELLO, 2019). O processo de resistência bacteriana pode ocasionar a extinção de ações terapêuticas assim, teremos menores recursos para combater as infecções, mesmo as de tratamento simples, causando grandes danos ao organismo. Um dos fatores que levará a está situação é a intensificada prescrição médica de antibióticos geralmente pela incorreta verificação do quadro clínico. Em ambientes hospitalares está incidência é ainda maior, por fatores como internação hospitalar prévia, procedimentos



invasivos como inserção de cateter urinário, inserção de cateter venoso central, inserção de sonda gástrica, incisão de traquéia, doença do sistema urinário e exposição a antibióticos. Portanto o ambiente desempenha um papel importante na disseminação da resistência antibacteriana, que é um depósito ilimitado de genes de resistência antimicrobiana (MACHADO *et al.*, 2021). Nos últimos anos tem se observado que a resistência bacteriana aos antibióticos é um problema grave para a saúde, desta forma a busca por novos medicamentos que minimizem esta situação se tornou uma urgente necessidade, porém a demanda não está sendo suprida. Neste sentido, as moléculas de triazenos com potencial antibacteriano que estão sendo desenvolvidas são pertencentes a classe antimicrobiana mais antiga, ou seja, essas moléculas já estão sujeitas ao mecanismo de resistência (SOUSA, 2013).

#### **4.5 Potencial antibacteriano dos compostos da classe triazenos**

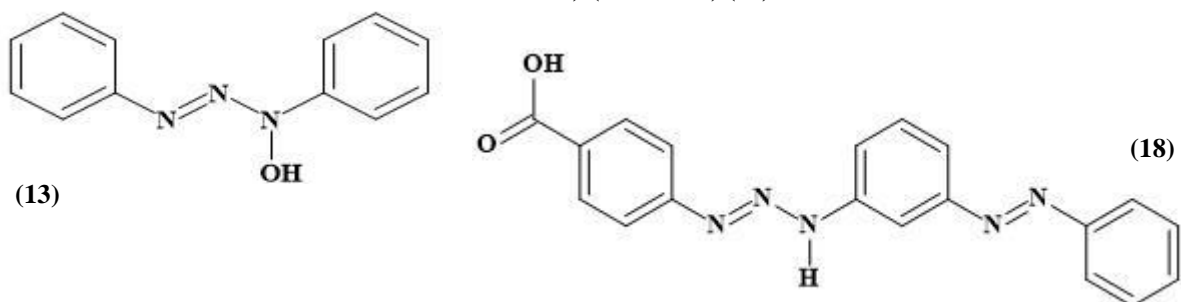
Goswami e Purohit (2001) realizaram um estudo com o objetivo de avaliarem a atividade antibacteriana e antifúngica de treze hidroxitriazenos, sintetizados a partir do método que apresenta melhor rendimento e facilidade de preparação, ou seja, acoplando um alquil ou aril hidroxilamina com sal de diazônio na proporção molar 1:1, em acetato meio tampão de pH 5,0. Após a síntese a atividade antibacteriana dos treze compostos foi avaliada frente à cinco cepas bacterianas sendo elas: *Enterococcus faecalis* (A), *Klebsiella pneumoniae* (B), *Escherichia coli* (C), *Pseudomonas aeruginosa* (D), *Staphylococcus aureus* (E). Contudo, os resultados mostraram que dos treze hidroxitriazenos apenas dois compostos apresentaram atividade antibacteriana porém, apenas contra bactérias Gram-positivas (A) e (E). E o valor da concentração inibitória mínima (CIM) foi de <12,5 µg/ml para *Staphylococcus aureus*.

Os compostos hidroxitriazenos são agentes quelantes bidentados e seus sítios doadores são por meio do oxigênio e nitrogênio da estrutura quelante “C” e com base nas estruturas dos hidroxitriazenos, é possível analisar que os compostos ativos têm em comum um grupo carboxílico no anel (1) que pode estar desempenhando um papel ativo no fornecimento da atividade antibacteriana para o composto. Os agentes antimicrobianos atuam normalmente em uma das quatro maneiras de interromper os processos microbianos: (1) eles dificultam a síntese da parede celular; (2) eles inibem a síntese de proteína microbiana e ácido nucléico; (3) eles perturbam a estrutura e função da membrana microbiana (4) eles bloqueiam as vias metabólicas através da inibição da chave enzima. Desta forma, a explicação mais provável para o mecanismo pode estar a base da propriedade quelante de hidroxitriazenos, ou seja, eles formam

quelato com os componentes da parede celular e prejudicam a célula, esta explicação é ainda mais reforçada pelo fato de que a diferença básica entre bactérias Gram-positiva e Gram-negativa estão em suas paredes celulares, isto é, a parede celular da Gram-positiva consiste em uma única camada de peptidoglicano com espessura de 20-80 nm fora da membrana plasmática enquanto a parede celular da bactéria Gram-negativa é bastante complexa com 1-3 nm de camada de peptidoglicano, esta camada é circundada por uma membrana externa de 7 a 8 nm de espessura e a penetração de hidroxitriazenos para formar quelato com a célula, os componentes das paredes não são facilitados em caso de bactérias Gram-negativas, portanto não apresentaram atividade antibacteriana. No entanto a parede celular das bactérias Gram-positivas permitem a penetração e formação de quelato e portanto a atividade antibacteriana foi mostrada. Entretanto, os compostos hidroxitriazenos evidenciaram ser uma classe promissora antimicrobiana a ser estudada.

Outro estudo realizado por Paraginski (2007), avaliou a atividade antibacteriana de seis compostos triazenos e da Dacarbazina, sendo eles: (13) 1,3-bis-(fenil)triazeno-1-*N*-hidróxido, (14) 1-(4-bromofenil)-3-(4-nitrofenil)triazeno, (15) 1-(4-azofenil)-3-(4-nitrofenil)triazeno, (16) 1,3-bis-(4-azofenil)triazeno, (17) 1,3-bis-(2-bromofenil)triazeno e (18) 1-(4-carboxifenil)-(3-azofenil)triazeno. Para verificar a atividade antibacteriana dos compostos utilizou-se a metodologia de microdiluição em caldo com determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). Em geral os triazenos foram ativos tanto para bactérias gram-positivas quanto para bactérias gram-negativas. Desta forma os compostos mais ativos foram o 1,3-bis-(fenil)triazeno-1-*N*-hidróxido (13) tanto para as bactérias gram-positivas quanto para as gram-negativas, o 1-(4-carboxifenil)-(3-azofenil) (18) e a Dacarbazina foram ativos para todas bactérias gram-positivas e apresentaram-se menos ativos para as gram-negativas (Figura 11).

**Figura 11 - Representação estrutural de compostos 1,3-bis-(fenil)triazeno-1-*N*-hidróxido (13) e o 1-(4-carboxifenil)-(3-azofenil) (18)**

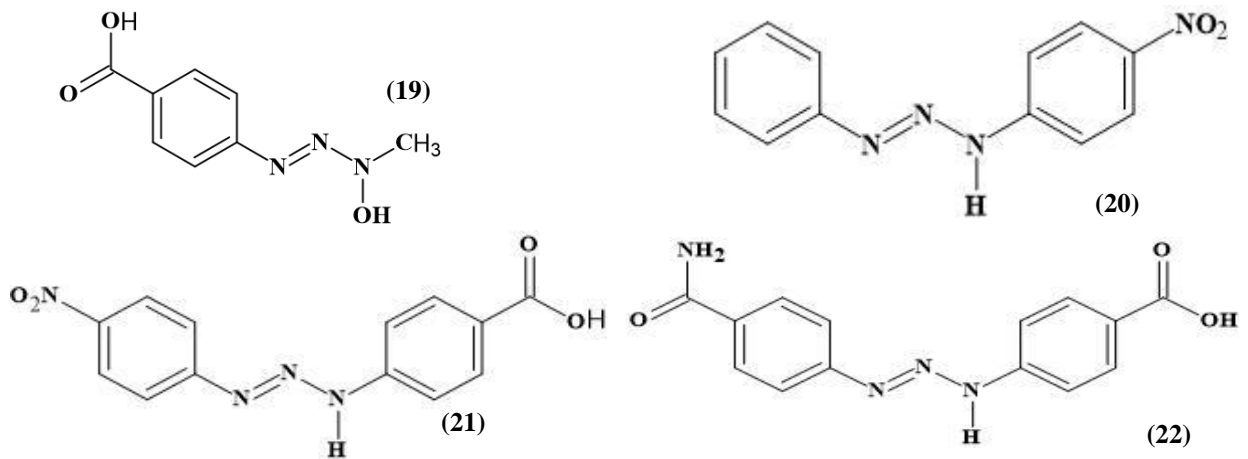


Fonte: Paraginski (2007, p. 51).

Para verificação de atividade antibacteriana foi feito o controle com excipiente ácido cítrico da dacarbazina frente à algumas bactérias: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ESBL 32, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Salmonella choleraeruis* ATCC 10708. Portanto analisou-se que o ácido cítrico não possui atividade nas concentrações testadas para nenhuma das bactérias. A dacarbazina apresentou poder bactericida para 10 das 12 cepas gram-positivas que foram testadas e das 8 cepas gram-negativas testadas, apresentou poder bactericida para 3, ou seja mostrou atividade bacteriostática. O composto (13) também foi bactericida para 4 das 15 cepas gram-positivas e para 5 das 19 cepas gram-negativas testadas do qual apresentou atividade bacteriostática, desta forma, o composto mais ativo foi o (13) que possui um grupamento OH e duas fenilas pois de acordo com a literatura compostos triazenos que possuem a hidroxila apresentam atividade antibacteriana (GOSWAMI; PUROHIT, 2001).

Hörner *et al.*, (2008), mostrou um estudo envolvendo um grupo de quinze triazenos inéditos, com determinação da (CIM), que representa a concentração inibitória mínima que a droga (triazeno) deve atingir para inibir a multiplicação da bactéria e da (CBM) que representa a concentração bactericida mínima que a droga (triazeno) deve atingir para eliminar a bactéria, frente à diversas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, utilizando cepas padrão (*American Type Culture Collection - ATCC*) e cepas hospitalares, sendo que algumas delas apresentando multirresistência aos antimicrobianos disponíveis no comércio. Desta forma elegeu-se 34 cepas de microrganismos, sendo 31 isolados clínicos e 3 ATCC, inclui-se 18 gêneros com diferentes padrões de patogenicidade e de sensibilidade. Os compostos triazenos foram sintetizados conforme metodologia descrita na literatura (Zhao *et al.*, 1997; Hörner *et al.*, 2002; Hörner *et al.*, 2003; Hörner *et al.*, 2006 a, b). Desta forma os compostos foram testados e 12 deles apresentaram algum tipo de atividade antibacteriana. Dos compostos triazenos analisados os mais ativos encontram-se representados na Figura 12, o composto (19) com CIM = 16 µg/mL frente a *S. agalactiae*, os compostos (20), (21) e (22) com CIM = 32 µg/mL frente a *E. cloacae* e CIM = 64 µg/mL frente a *Rhodococcus* sp. Os compostos (21) e (22) apresentaram CIM = 64 µg/mL, sendo o composto (21) frente a *S. saprophyticus* e o composto (22) frente a *S. epidermidis*.

Figura 12 - Representação estrutural de compostos mais ativos descritos por Hörner *et al* (2008)

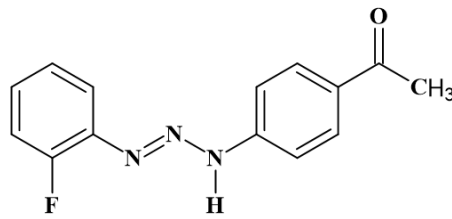


Fonte: Hörner *et al* (2008, p. 445).

O composto 1-metil-3-(4-carboxifenil)triazeno-1-óxido (19) foi o que melhor apresentou atividade antimicrobiana frente as bactérias testadas com CIM = 16 µg/mL. A atividade antibacteriana principalmente frente à *S. agalactiae* é extremamente importante pois, é recomendado a quimioprofilaxia para gestantes entre a trigésima quinta à trigésima sétima semana de gravidez no trato genital/anal como forma de prevenção do neonato pois está bactéria pode causar pneumonia e meningite em recém-nascidos. O composto 1-(4-nitrofenil)-3-(4-carboxifenil)triazeno (21) foi o que apresentou atividade sobre o maior número de cepas (7 bactérias). Em relação as cepas ESBLs que são microrganismos multirresistentes nenhum dos compostos foram ativo frente a elas.

Os compostos (20), (21) e (22) que apresentaram atividade frente a bactéria *E. cloacae* é muito importante pois, este microrganismo juntamente com *C. freundii*, *M. morgani* e *Serratia sp* são responsáveis pela causa de infecções hospitalares em neonatos e imunocomprometidos, sendo um grupo de bactérias muito resistentes à diversos antibióticos. Portanto, apenas dois compostos triazenos apresentaram atividade bactericida frente a *S. agalactiae* (CBM = 32 µg/mL) e *Corynebacterium sp.* (CBM = 128 µg/mL) sendo o 1-metil-3-(4-carboxifenil)triazeno-1-óxido (19) e o 1-(2-flúorfenil)-3-(4-acetilfenil)triazeno (23), representados na Figura 13.

**Figura 13 - Representação estrutural do composto 1-(2-flúorfenil)-3-(4-acetilfenil)triazeno (23)**

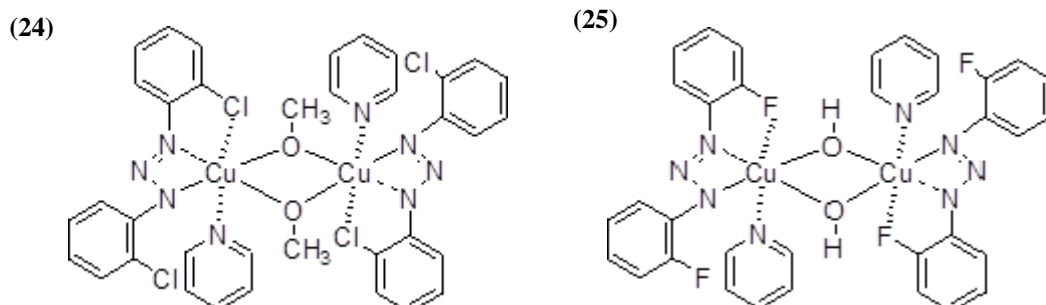


Fonte: Hörner *et al* (2008, p. 445).

A explicação de que estes compostos apresentaram atividade bactericida é devido a sua capacidade quelante, ou seja, eles formariam quelatos com alguns constituintes da parede celular e desta forma impedindo a síntese desta estrutura bacteriana. Essa mesma suposição foi apresentada por Goswami e Purohit (2001), para explicar a atividade antimicrobiana de hidroxitriazenos. Portanto dos compostos triazenos testados, doze deles apresentaram atividade antibacteriana e estes resultados mostraram que os triazenos constituem uma classe promissora para estudos para avaliar sua toxicidade e eficácia *in vitro* e *in vivo*.

Rodrigues (2013) apresentou um estudo envolvendo a síntese de dois novos compostos triazenos complexados com Cu (II) com o objetivo de identificar novos agentes com atividade antiproliferativa e antibacteriana. Desta maneira o composto triazeno Bis[1,3-bis(2-clorofenil)triazenido- $\kappa N^{11}, N^{13}$ - $\mu$ -O-metóxi-piridina- $\kappa N$ -cobre(II)] $C_{36}H_{34}N_8O_2Cl_4Cu_2$  (24) e o composto Bis[1,3-bis(2-fluorfenil)triazenido- $\kappa N^{11}, N^{13}$ - $\mu$ -O-hidróxi-piridina- $\kappa N$ -cobre(II)] $C_{34}H_{28}N_8O_2F_4Cu_2$  (25) foram sintetizados e estão representados na Figura 14.

**Figura 14 - Representação estrutural dos compostos (24) e (25)**



Fonte: Rodrigues (2013, p. 45).

Após a síntese a atividade antibacteriana dos compostos (24) e (25) foi avaliada *in vitro* frente aos microrganismos padrão de referência *American Type Culture Collection* (ATCC) e

isolados clínicos resistentes a múltiplos antimicrobianos (MDR) sendo cepas bacterianas Gram-positivas como *Micrococcus luteus* 7468, *Enterococcus faecalis* 51299, *Enterococcus faecalis* 29212, *Staphylococcus saprophyticus* 15305, *Staphylococcus aureus* 25923, *Staphylococcus epidermidis* 12228, *Bacillus cereus* 14579; e Gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* 27859, *Klebsiella pneumoniae* 700603, *Escherichia coli* 35218, *Salmonella thyphymurium* 14028. Todas isoladas de pacientes atendidos no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), oriundas de amostras de sangue, escarro, urina e secreção traqueal. A atividade antibacteriana foi determinada em caldo Mueller Hinton (Difco), seguindo o método padrão de microdiluição em caldo recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012), com determinação da CIM, definida como a menor concentração do composto que impede o crescimento visível do microrganismo. O composto (24) apresentou atividade antibacteriana frente as cepas ATCC: *Micrococcus luteus* 7468 com CIM = 64µg/mL e *Staphylococcus aureus* 25923 com CIM = 128 µg/mL, e cepas MDR *Staphylococcus aureus* (1) com CIM = 64 µg/mL. Já o composto (25) apresentou atividade antibacteriana frente a cepas MDR *Staphylococcus aureus* (1) com CIM = 128 µg/mL. Diante disso os valores de CIM sugerem que o composto (24) apresentou maior atividade antibacteriana que o composto (25) frente as cepas analisadas, visto que, para a maioria das bactérias a CIM do composto (25) foi maior que 128 µg/mL.

Paraginski e seus colaboradores (PARAGINSKI *et al.*, 2014), avaliaram a atividade antibacteriana de uma nova série de diariltriazenos sintetizados e caracterizados quimicamente, sendo eles: 3-hidróxi-1,3-bis(fenil)-1-triazeno ou 1,3-bis(fenil-triazeno)-1-óxido (26); 1-(4-bromofenil)-3-(4-nitrofenil)triazeno (27); 1-(4-(fenildiazenil)fenil)-3-(4-nitrofenil)triazeno (28); 1,3-bis((fenildiazenil)fenil)triazeno (29); 1,3-bis(2-bromofenil)triazeno (30) e 1-(4-fenildiazenil)fenil)-3-(4-carboxifenil)triazeno (31). Os compostos foram analisados frente as bactérias padrões (*American Type Culture Collection*, ATCC) e também bactérias isoladas clinicamente pelo laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), ou seja, bactérias denominadas atualmente de multirresistentes. Ao todo foram utilizadas 51 cepas, sendo 19 Gram-positivas e 32 Gram-negativas.

Desta forma a atividade antibacteriana foi determinada de acordo com o método de microdiluição, com a determinação da (CIM) e da (CBM). Com diferentes concentrações dos compostos triazenos (128 a 0,25 µg mL<sup>-1</sup>) a CIM foi determinada pela menor concentração do composto capaz de inibir o crescimento bacteriano e que determina a atividade bacteriostática, já a CBM determinou-se pela menor concentração do composto capaz de matar as bactérias e também determina a atividade bactericida. A atividade antibacteriana foi analisada frente a

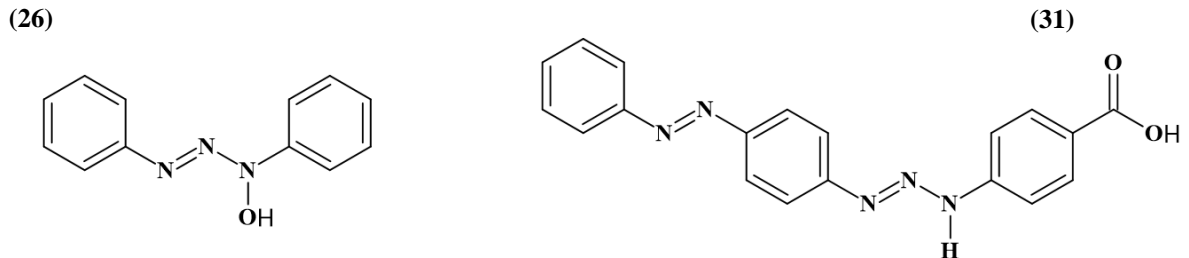
bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, cepas padrões ATCC e cepas isoladas clinicamente no HUSM. Os resultados mostraram que os compostos são ativos em 57% dos testes frente às cepas Gram-positivas e 33, 9% frente às cepas Gram-negativas, desta forma mostrando-se resultados promissores como agentes bacteriostáticos e bactericidas. As cepas Gram-negativas apresentaram mecanismos significativos de resistência, assim podendo ter diminuído a porcentagem de atividade em relação às bactérias Gram-positivas.

Deste modo, o composto mais ativo frente a um maior número de espécies avaliadas foi o triazeno (26), apresentando atividade frente a 15 das 19 bactérias Gram-positivas e frente a 19 das 29 bactérias Gram-negativas. O segundo mais ativo bacteriostaticamente foi o composto 1-(4-fenildiazenil)fenil)-3-(4-carboxifenil)triazeno que mostrou-se grande seletividade para cepas Gram-positivas, ou seja, este composto foi ativo para todas cepas Gram-positivas e foi ativo para somente 5 cepas Gram-negativas. Contudo sugere-se que o grupo carboxílico substituinte do anel aromático tenha influência positiva na atividade frente às cepas Gram-positivas pois, estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos por Goswami e Purohit, em 2001, o qual também mostrou que hidroxitriazenos contendo o substituinte carboxifenil possuem melhores atividades antibacterianas (GOSWAMI; PUROHIT, 2001). Entretanto isto não ocorre frente às cepas Gram-negativas pois, as mesmas possuem uma parede celular com estrutura mais complexa que pode dificultar a entrada do composto 1-(4-fenildiazenil)fenil)-3-(4-carboxifenil)triazeno na célula impedindo a sua ação antibacteriana. Desta forma observa-se que este composto não foi bactericida para nenhuma cepa Gram-negativa. Já o composto 1-(4-bromofenil)-3-(4-nitrofenil)triazeno foi bacteriostático frente a 6 cepas Gram-positivas e frente a 8 cepas Gram-negativas, porém, não foi bactericida para nenhuma cepa testada. O composto 1-(4-(fenildiazenil)fenil)-3-(4-nitrofenil)triazeno foi bacteriostático frente a 14 cepas Gram-positivas e frente a 14 cepas Gram-negativas. O 1,3-bis((fenildiazenil)fenil)triazeno foi ativo frente a 8 cepas Gram-positivas e frente a 8 cepas Gram-negativas. O triazeno 1,3-bis(2-bromofenil)triazeno foi ativo frente a 3 cepas Gram-positivas e frente a 5 cepas Gram-negativas. Os compostos 1,3-bis((fenildiazenil)fenil)triazeno e 1,3-bis(2-bromofenil)triazeno não apresentaram atividade bactericida para cepas Gram-positivas e o triazeno 1,3-bis(2-bromofenil)triazeno foi bactericida para apenas uma bactéria Gram-negativa.

Dos 6 compostos avaliados, o 1,3-bis((fenildiazenil)fenil)triazeno e o 1,3-bis(2-bromofenil)triazeno foram os menos ativos, assim dando indícios de que os diariltriazenos simétricos contendo os substituintes fenildiazenil e bromo não propiciam efeito sinérgico à atividade antibacteriana. Desta maneira, os compostos triazenos que apresentaram melhores

ações bacteriostáticas e bactericidas foram os compostos 1,3-bis(fenil-triazeno)-1-óxido (26) e 1-(4-fenildiazenil)fenil)-3-(4-carboxifenil)triazeno (31), representados na Figura 15.

**Figura 15 - Representação estrutural de compostos mais ativos descritos por Paraginski *et al.* (2014)**



Fonte: Paraginski *et al.* (2014, p. 1139).

Portanto os compostos que apresentam em sua estrutura os substituintes carboxifenil e hidroxila mostraram atividade antibacteriana. Deste modo este estudo confirma os resultados obtidos por Goswami e Purohit, em 2001, que também mostrou que hidroxitriazenos contendo o substituinte carboxifenil possuem melhores atividades antibacterianas e antifúngicas (GOSWAMI; PUROHIT, 2001). Por outro lado, os resultados mostraram atividade frente a uma porcentagem maior de bactérias do que esses estudos. Assim os triazenos (26) e (31) foram os compostos que melhores apresentaram resultados para a atividade antibacteriana.

Garzon e colaboradores (GARZON *et al.*, 2015) avaliaram a atividade antibacteriana *in vitro* de dois complexos triazenidos de platina (II), sintetizados e caracterizados quimicamente pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). O composto (32): {*trans*[1-(2-bromofenil)-3-(2-nitrofenil)triazenido]-*bis*-(piridina)(cloro)platina(II)} e o composto (33): {*cis*[1-(2-nitrofenil)-3-(2bromofenil)triazenido]}(ditrifetilfosfina)(cloro)platina(II)} foram analisados frente a 23 cepas bacterianas provenientes do Laboratório de Bacteriologia da UFSM, sendo 12 Gram-positivas e 11 Gram-negativas.

Dos microrganismos testados, são 13 cepas ATCC, sendo 5 Gram-negativas: *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27859, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 e 8 Gram-positivas: *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *E. faecalis* ATCC 51299, *Micrococcus luteus* ATCC 7468, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305 e 10 isolados clínicos RMD obtidos no HUSM, sendo 6 cepas GN: *Acinetobacter baumannii* RMD 34, *A. baumannii* RMD 47, *E.coli* RMD329, *K. pneumoniae* RMD 806, *K.*



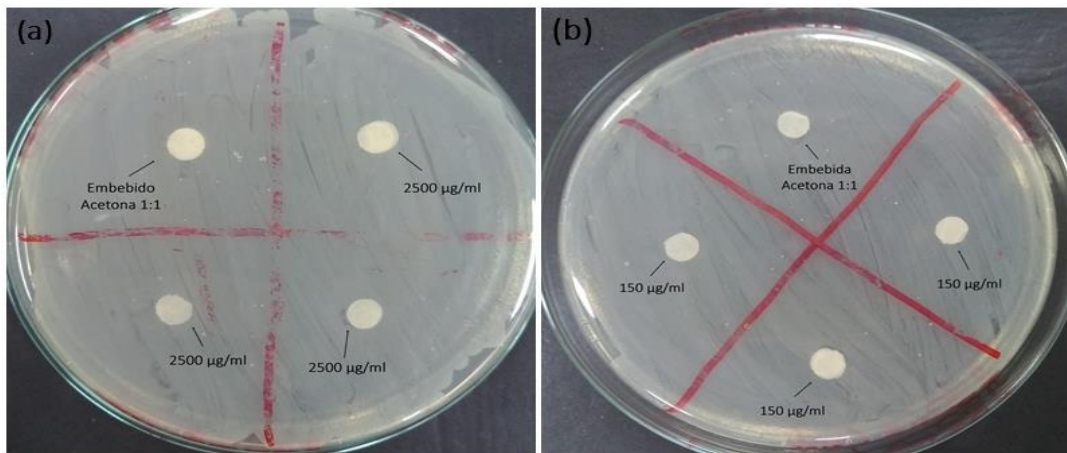
*pneumoniae* RMD 983, *P.aeruginosa* RMD 64 e 4 GP: *S. epidermidis* RMD 27, *S. epidermidis* RMD 102, *S. aureus* RMD 28, *S. aureus* RMD 31. Desta forma, a atividade antibacteriana foi realizada utilizando o método de microdiluição em caldo, com determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), baseado no documento *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). Determinou-se a CIM como a menor concentração que inibiu completamente o crescimento dos microrganismos e os resultados mostraram atividade antibacteriana nos dois compostos triazenos testados, obtendo a capacidade de inibição do crescimento em 6 das 23 bactérias analisadas, sendo 5 das cepas ATCC e 1 dos isolados bacterianos RMD, assim os compostos (32) e (33) foram ativos somente em bactérias Gram-positivas.

Em relação às cepas ATCC o composto (32) apresentou atividade para *E. faecalis* 51299 e *S. saprophyticus* 15305 com CIM de 64 µg/mL. A *E. faecalis* 29212 demonstrou atividade com CIM de 16 µg/mL. Ainda, o complexo (32) foi ativo em 2 das 4 cepas de *S. aureus* testadas, sendo elas: *S. aureus* ATCC 25923 e *S. aureus* ATCC 29213, apresentando CIM de 64 µg/mL para todos esses microrganismos. Para os isolados RMD, obteve-se valor de CIM de 64 µg/mL para o composto (33) frente ao *S. epidermidis* 27. Assim para as demais bactérias analisadas os compostos (32) e o (33) obtiveram CIM > 128 µg/mL. De acordo com os efeitos dos compostos de coordenação sugere-se que a eficácia do {*trans*[1-(2-bromofenil)-3-(2-nitrofenil)triazenido)-*bis*-(piridina)(cloro)platina(II)} (32) contra infecções causadas por *S. aureus*, que se demonstrou fortemente ativo, é devido a formação de biofilme que aumenta a resistência destes patógenos aos antimicrobianos usuais. Diante disto, Fernandes e colaboradores apresentaram que compostos complexados com metais são importantes protótipos para o desenvolvimento de novos metalofármacos com atividade antibacteriana frente às cepas de *S. aureus* (FERNANDES *et al.*, 2010). Assim os compostos (32) e o (33) não inibiram o crescimento bacteriano em 17 das 23 cepas bacterianas testadas, portanto, sugere-se que se deve as limitações nas concentrações e quantidades adotadas dos compostos para a realização dos testes. Dessa forma, o composto (32) foi o que apresentou maior atividade, ou seja, esteve ativo em 5 das 6 bactérias com crescimento inibido.

Outro estudo realizado por Souza (2018), utilizou o método descrito por Hartman *et al.* (1943) para obtenção de dois novos compostos da classe triazeno e a análise do potencial antibacteriano dos mesmos. A atividade antibacteriana foi determinada de acordo com o método de disco-difusão descrito por Ribeiro e Stelato (2011) e as bactérias utilizadas foram *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os compostos 1,3-bis(2,4-dinitrofenil)triazeno (34) e o 1-(4-nitrofenil)-3-(2,4-dinitrofenil)triazeno (35) sintetizados foram analisados e num primeiro momento os dois mostraram-se inativos frente as bactérias estudadas e nas

concentrações empregadas, diante deste teste confirmou-se que nas concentrações testadas as bactérias apresentaram-se resistentes aos dois compostos sintetizados, como mostra na Figura 16, onde as placas contendo a bactéria *Escherichia coli* juntamente com os discos embebidos das soluções de 1,3-bis(2,4-dinitrofenil)triazeno (34) e o 1-(4-nitrofenil)-3-(2,4-dinitrofenil)triazeno (35).

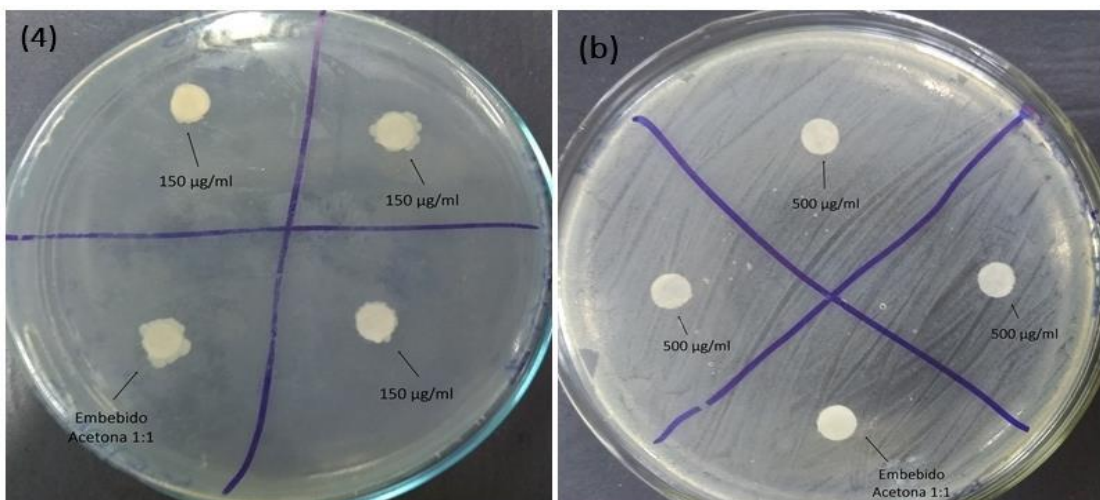
**Figura 16 - Placas com discos já embebidos das soluções de 1-(4-nitrofenil)-3-(2,4-dinitrofenil)triazeno (a) e o 1,3-bis(2,4-dinitrofenil)triazeno (b) frente a bactéria *E. coli***



Fonte: Souza (2018, p. 45).

Já nas placas contendo a bactéria *Staphilococcus aureus* os inóculos (a) e (b) não foram positivos, conforme Figura 17.

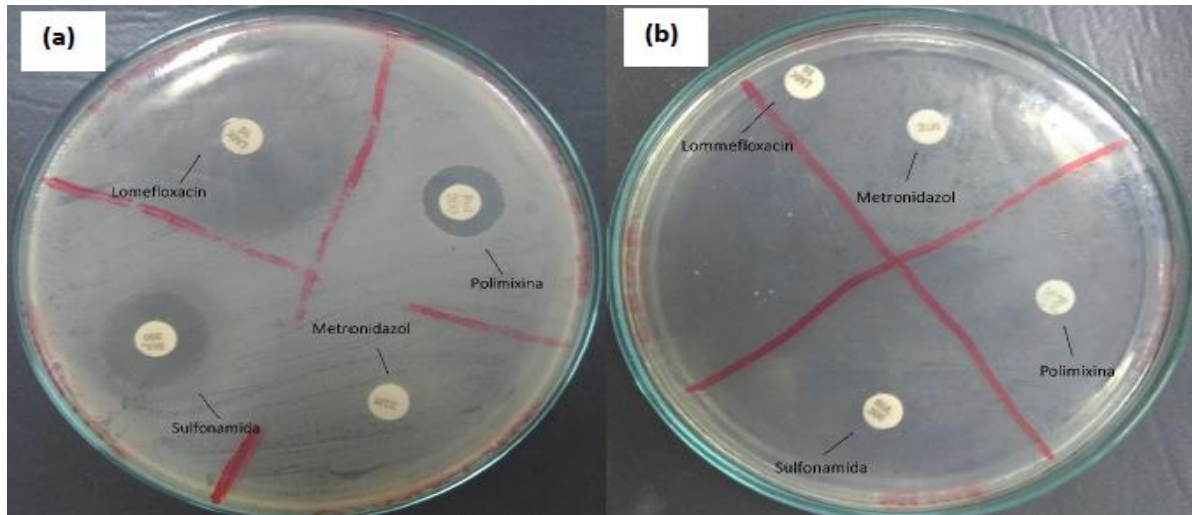
**Figura 17 - Placas com discos já embebidos das soluções de 1-(4-nitrofenil)-3-(2,4-dinitrofenil)triazeno (a) e o 1,3-bis(2,4-dinitrofenil)triazeno (b) frente a bactéria *S. aureus***



Fonte: Souza (2018,p. 45).

Ao inocular a placa de Muller-Hinton com uma suspensão do agente patogênico, o crescimento do microrganismo ocorre simultaneamente com a difusão do composto antimicrobiano. Diante disto, é importante ressaltar que o tamanho da zona de inibição do crescimento pode variar de acordo com o antibiótico utilizado de acordo com a Figura 18.

**Figura 18 - Imagem da placa de petri contendo ágar Muller-Hinton com diferentes antibióticos inibindo o crescimento ou não das bactérias de *Escherichia coli* (a) e *Staphylococcus aureus* (b)**



Fonte: Souza (2018, p. 43).

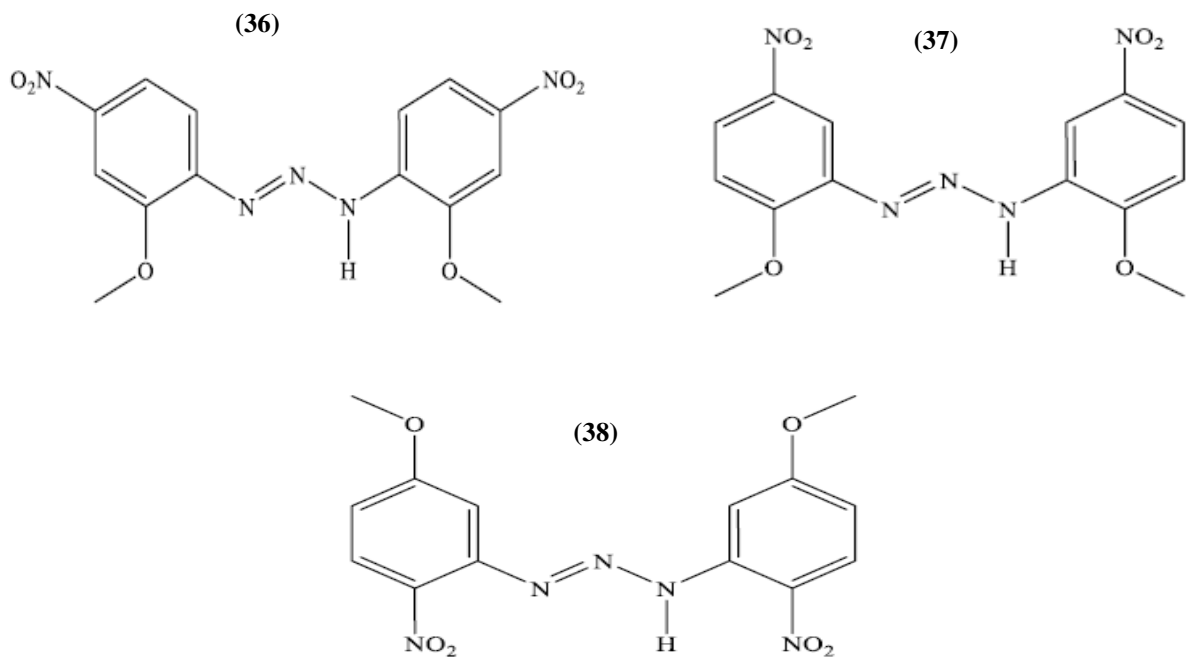
É possível verificarmos o crescimento da bactéria pelo desenvolvimento de uma camada esbranquiçada no meio da cultura, porém quando o composto apresenta atividade antibacteriana há a formação de um halo ao redor do disco, como na amostra utilizada como padrão demonstrado na figura 18 (a), onde os antibióticos Lomefloxacin, Polimixina e a Sulfonamida apresentaram poder de inibição para a bactéria *E. coli*. Do ponto de vista clínico, a concentração do antimicrobiano na borda do halo está relacionada à concentração do microrganismo no processo de difusão a partir do disco e sua interpretação também leva em consideração a concentração da bactéria que define sensibilidade ou resistência microbiana (SEJAS *et al.*, 2003). Diante disso, a técnica se tornou ineficaz na presença da bactéria *Staphylococcus aureus* pois os antibióticos utilizados como padrão conforme mostrado na figura 18 (b) não foram inibidos em nenhum deles.

Em algumas placas notou-se que os discos criaram película em volta com a bactéria, assim podendo concluir a possibilidade dos discos estarem úmidos, carregando água para o meio, contaminando o mesmo e podendo levar ao impedimento dos compostos triazenos atuarem como potencial antibacterianos. O teste de disco-difusão é um método prático, de fácil execução e idealizado para bactérias de crescimento rápido. Os reagentes são econômicos e não

há necessidade de equipamentos especiais, porém é um método que apresenta algumas limitações como a dificuldade na avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos que se difundem mal através do ágar. O teste disco-difusão pode levar a obtenção de resultados falsos, depende da qualidade do material utilizado ou na metodologia usada (SEJAS, *et al.*, 2003). Desta forma nem os triazenos e nem os próprios antibióticos foram capazes de inibir as bactérias.

Figueirêdo e colaboradores (2021) avaliaram o potencial biológico, antifúngico e antimicrobiana de novos compostos triazeno derivados de 1,3-diariltriazeno. Os compostos 1,3-bis(2-metóxi-4-nitrofenil)triazeno (36), 1,3-bis(2-metóxi-5-nitrofenil)triazeno (37) e o 1,3-bis(5-metóxi-2-nitrofenil)triazeno (38), estão representados na Figura 19.

**Figura 19 - Representação estrutural dos compostos (36), (37) e (38)**



**Fonte: Figueirêdo *et al.* (2021, p. 5).**

Os compostos triazenos foram testados frente as cepas ATCC padrão, sendo elas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus hemolyticus* IC 13084879, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Proteus mirabilis* 7002 e *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606. Todos os testes de atividade antimicrobiana foram realizados em caldo Mueller Hinton e foram determinados de acordo com suas concentrações inibitória mínima (CIM)

utilizando a técnica de microdiluição descrita pela *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). O teste antibacteriano utilizando a técnica de difusão em ágar mostrou que o composto (36) zona de inibição para todos os microrganismos, principalmente para a *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 com uma zona de 4,5 mm de diâmetro, contudo o composto (38) apresentou CIM efetiva de 9,937 µg/mL.

Diante disto, os resultados mostraram que todos os compostos triazeno foram ativos frente as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas com baixos valores de CIM. Estes dados sugerem que os compostos triazenos derivados de 1,3-diariltriazenos são promissores na utilização clínica como novos antimicrobianos.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentre as publicações analisadas é possível observar que a maioria dos compostos que apresentaram atividade antibacteriana foram os que apresentaram hidroxila e carboxila como substituintes em suas estruturas, devido a sua capacidade de formar quelatos com alguns constituintes da parede celular impedindo a síntese bacteriana. Além disso, a maioria dos compostos triazenos ativos foram frente as bactérias Gram-Positivas, provavelmente pela diferença da parede celular das bactérias, pois, a parede celular da bactéria Gram-positiva é envolvida por uma membrana, chamada de membrana plasmática, enquanto a parede celular da bactéria Gram-Negativa é envolvida por duas membranas, ou seja, a membrana plasmática e a membrana externa, assim, dificultando a penetração dos compostos triazenos para formação de quelatos. Desta forma, o estudo sobre compostos triazenos neste trabalho nos leva a perceber que os hidroxitriazenos são compostos promissores como antibacteriano.

Deste modo, a realização deste trabalho foi de suma importância pois, ao fazer buscas na literatura encontrou-se poucos trabalhos referente a sínteses e análises de compostos triazenos com potencial antibacteriano, assim sendo evidente a necessidade de estudar mais estes compostos. Portanto os compostos triazenos evidenciaram ser uma classe promissora antimicrobiana de acordo com os trabalhos analisados nesta pesquisa, onde os resultados mostraram a ampla atividade antibacteriana dos compostos triazenos avaliados.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. D. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v28n1/23048.pdf>. Acesso em: 17 out. 2021.
- ANDRADE, D.; LEOPOLDO, V. C. Vanderlei José HAAS, V. J. Ocorrência de Bactérias Multiresistentes em um Centro de Terapia Intensiva de Hospital Brasileiro de Emergências. **RBTI - Revista Brasileira Terapia Intensiva**, Volume 18 - Número 1 - Janeiro/Março 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbti/a/bywVYGqdfYvSnR4QnFwk54s/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 10 nov. 2021.
- BEHM, M.B. **Síntese e avaliação de arranjos supramoleculares de triazenos monocatenados e complexos com os cátions  $\text{Co}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$  e  $\text{Au}^+$** . Tese de Doutorado, Centro de Ciências Naturais e Exatas – Universidade Federal de Santa Maria do Rio Grande do Sul, 2010. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4196/BEHM,%20MARIANA%20BONEBERGER.pdf>. Acesso em: 26 nov. 2021.
- BONMASSAR, L. *et al.* Triazene compounds in the treatment of acute myeloid leukemia a short review and a case report. **Curr med chem**. v. 20, p.2389-2401, 2013. Disponível em: <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cmc/2013/00000020/00000019/art00001?crawler=true>. Acesso em: 26 mar. 2021.
- BUTTLER, R. N.; SHELLY, D.P. **J. chem. soc. perkin tran.**; 1101, 1986.
- BRASË, S.; DAHMEN, S.; LAUTHERWASSER, F.; LEADBEATER, N. E.; SHARP, E. L. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**; 12, 1849, 2002.
- BROCH, F. **Síntese, cristalografia e propriedades de ligantes triazenos mono e biscatenados e derivados complexos de Cu (II), Ni(II) e Pd(II)**. Tese de Doutorado, Centro de Ciências Naturais e Exatas – Universidade Federal de Santa Maria do Rio Grande do Sul, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4248/BROCH%2c%20FERNANDA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 25 nov. 2021.
- BRUTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman. 12 ed. **Mcgraw-hill education – lange – artmed** – Porto Alegre: AMGH Editora Ltda., 2012.
- CAPORASO, P.; TURRIZIANI, M.; TPRTORELLI, G.; AVVISATI, G.; TORINO, F.; VECCHIS, L. **Pharmacological research**, 58, 275, 2007.
- CAPUCHA, V. T. A. **Desenvolvimento de pró-fármacos de triazenos anti-tumorais para aplicação em estratégias ADEPT: Ativação pela carboxipeptidase G2**. Dissertação de Mestrado. Universidade de Lisboa, 2010. Disponível em:

[https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/2611/1/Tese\\_Mestrado\\_Veronica\\_Capucha.pdf](https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/2611/1/Tese_Mestrado_Veronica_Capucha.pdf). Acesso em: 20 out. 2021.

CHABNER, B. A.; ROBERTS, T. G. Jr. Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. **Nature reviews cancer**. v. 5, p. 65-72, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15630416>. Acesso em: 10 nov. 2021.

CHABNER, B. A. *et al.* Goodman & Gilman: As Bases Farmacológica da Terapêutica. 12<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: **Mc graw hill**, 2012.

CHAUHAN, L. S.; JAIN, C. P.; CHAUHAN, R. S.; GOSWAMI, A. K. Synthesis and antimicrobial activity of some substituted hydroxytriazenes. **Journal Chemistry Pharmaceutical**. Res. 2010, 2, 979-983. Disponível em: <http://www.jocpr.com/articles/synthesis-and-antimicrobial-activity-of-some-substituted-hydroxytriazenes.pdf>. Acesso em: 31 mar. 2021.

CRESPAN, E. R. **Síntese, caracterização e avaliação da autoassociação molecular de 1,3-diariltriazenos e complexos triazenidos de Cu (I), Cu (II), Ni (II) e Pd (II)**. Tese de Doutorado, centro de ciências naturais e exatas – Universidade Federal de Santa Maria do Rio Grande do Sul, 2009. Disponível em: <http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4182/CRESPAN%2C%20ESTELA%20DOS%20REIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 26 mar. 2021.

CRESPAN, E. R.; BARANCELLI, D. A.; BEHM, M. B.; GIGLIO, V. F. **Desenvolvimento, caracterização e avaliação da atividade antitumoral e antibacteriana de triazenos e triazenidos complexos**. Projeto de Pesquisa – UTFPR. Campo Mourão-PR, 2015.

ENDERS, D.; RIJKSEN, C.; KÖBERLING, E.; GILLNER, A.; KÖBERLING, J. **Tetrahedron Lett.**; 45, 2839, 2004.

FERNANDES, C. *et al.* Synthesis, characterization and antibacterial activity of Fe<sup>III</sup>, Co<sup>II</sup>, Cu<sup>II</sup> and Zn<sup>II</sup> complexes probed by transmission electron microscopy. **J inorg biochem**. 2010;104:1214-1223.

FERREIRA, L. M. A. P. **Desenvolvimento de híbridos de triazenos anti-tumorais**. Dissertação de Mestrado. Universidade de Lisboa, 2019. Disponível em: [https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/43321/1/MICF\\_Laura\\_Maria\\_Ferreira.pdf](https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/43321/1/MICF_Laura_Maria_Ferreira.pdf). Acesso em: 21 nov. 2021.

FIGUEIRÊDO, P. S. *et al.* Assessment of the biological potential of diaryltriazene-derived triazene compounds. **Scientific Reports**, 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-81823-2.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2021.

GARZON, L. R. **Avaliação da atividade antibacteriana, citotóxica e nuclease química de complexos triazenidos de platina (II)**. Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/6028/GARZON%2C%20LITIERRI%20RAZIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 17 set. 2021.



GIGLIO, V.F. **Síntese e caracterização de triazenos e complexos de Hg(II) incluindo arranjos supramoleculares.** Tese de Doutorado. Centro de Ciências Naturais e Exatas – Universidade Federal de Santa Maria do Rio Grande do Sul, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4210/GIGLIO%2c%20VINICIUS%20FELTRI%20N.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 26 mar. 2021.

GOSWAMI, A. K.; PUROHIT, D. N. Synthesis and antimicrobial activities of some hydroxytriazenes: a new class o biologically active compounds. **Anal. Sci.**, v.17, p.1789-1791, 2001.

GRIESS, P.; **Proc. Roy. Soc. London**; 9: 594, 1859.

HARTMAN, W.W.; DICKEY, J.B. 2,6-dibromoquinone-4-chloroimide, **Org. Synth; Coll: 2**, 163, 1943.

HÖRNER, M.; VISENTIN, L.C.; DAHMER, M.; BORDINHÃO, J. **Acta Crystallographic**, C58, m286, 2002.

HÖRNER, M.; CASAGRANDE, I.C.; FENNER, H.; DANIELS, J.; BECK, J. **Acta Crystallogr. Sect. C**; C59, m424, 2003.

HÖRNER, M.; OLIVEIRA, G. M.; BEHM, M. B.; FENNER, H. Bidimensional self-assembling of  $[Hg^{II}[RPhNNNPhR']_2]$  (R=acetyl, R' = F) through metal- $\eta^4$ -arene  $\pi$ -interactions and non classical C–H...O bonding: Synthesis and X-Ray characterization of a bis diaryl symmetric-substituted triazenide complex polymer of Hg(II). **Z. Anorg. Allg. Chem.**, v. 632, p.615-618, 2006a.

HÖRNER, M.; OLIVEIRA, G. M.; GIGLIO, V. F.; VISENTIN, L. C.; BROCH, F.; BECK, J. **Inorg. Chim. Acta**, v.359, p.2309, 2006b.

HÖRNER, M.; GIGLIO, V. F.; SANTOS, A. J. R. W. A.; WESTPHALEN, A. B.; IGLESIAS, B. A.; MARTINS, P. R.; AMARAL, C. H.; MICHELOT, T. M.; REETZ, L. G. B.; BERTONCHELI, C. M.; PARAGINSKI, G. L.; HÖRNER, R. Triazenos e atividade antibacteriana. **Revista Brasileira Ciências farmacêuticas Santa Maria**, v. 44, n. 3, p.441-449, jul. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v44n3/a14v44n3.pdf>. Acesso em: 26 mar. 2021.

KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica.** 13<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill Education – Lange – Artmed – Porto Alegre: AMGH Editora Ltda., 2017.

KEMPFER, C. B. **Avaliação da atividade biológica de triazenos inéditos complexados com Au (I).** Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Santa Maria do Rio Grande do Sul, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/6012/KEMPFER%2c%20CLAUDIA%20BARBISAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 15 out. 2021.

LAZNY, R.; NODZEWSKA, A.; KLOSOWSKI, P. **Tetrahedron** 60, 121, 2004.

MACHADO, C. S.; SILVA, J. M.; FILGUEIRAS, L. P. C.; MACIEL, A. L. Resistência Antimicrobiana: uso indiscriminado de antibióticos e os impactos na sociedade. **Revista**

**saúde e desenvolvimento humano** - ISSN 2317-8582, 2021. Disponível em: [https://revistas.unilasalle.edu.br/index.php/saude\\_desenvolvimento/article/view/6351/pdf](https://revistas.unilasalle.edu.br/index.php/saude_desenvolvimento/article/view/6351/pdf). Acesso em: 22 dez. 2021.

MARCHESI, F.; TURRIZIANI, M.; TORTORELLI, G.; AVVISATI, G.; TORINO, F.; DE VECCHIS, L. Triazene compounds: mechanism of action and related DNA repair systems. **Pharmacological research** n° 56. p. 275–287, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661807001405?via%3Dihub>. Acesso em: 10 nov. 2021.

MATTES, W. B.; HARTLEY, J. A.; KOHN, K. W. **Dna sequence selectivity of guanine-N7 alkylation by nitrogen mustards**. *Nucleic Acids Research*. v. 14, n. 7, 1986. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC339715/>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MELLO, M.S. **Ações para a prevenção e controle da resistência bacteriana em hospitais de grande porte de Minas Gerais**. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/31014/1/Mariana%20Sanchez%20Mello.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2021.

MOORE, D. S. & ROBINSON, S. D.; **Adv. inorg. chem. radiochem.** 30, 1, 1986.

NIFONTOV, V. I.; BEL'SKAYA, N. P.; SHTOKAREVA, E. A. Methods of synthesis and technology of drug: manufacture methods of synthesizing triazenes. **Pharmaceutical chemistry journal**, 1993, 27: 40-49.

NUNES, M. S.; GARZON, L. R.; MARTINI, R.; RAMPELOTTO, R. F.; LOCATELLI, A.; HÖRNER, M.; HÖRNER, R. Atividade antibacteriana de um composto triazenido com ouro frente a cepas bacterianas e isolados clínicos. **Revista cubana de farmácia**. 2014; 48(4):573-581. Disponível em: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v48n4/far06414.pdf>. Acesso em: 24 nov. 2021.

OLIVEIRA, M.; PEREIRA, K. D. S.; ZAMBERLAM, C. R. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado de antibióticos: Uma questão de saúde pública. **Revista ibero-americana de humanidades, ciências e educação**. Criciúma, v. 6.n.11, nov, 2020. Disponível em: <https://periodicorease.pro.br/rease/article/view/279/141>. Acesso em: 12 nov. 2021.

OMBAKA, A. O.; MUGUNA, A. T.; GICHUMBI, J. M. Antibacterial and antifungal activities of novel hydroxytriazenes. **Journal of environmental chemistry and ecotoxicology** Vol. 4(7), pp. 133-136, 2 April, 2012. Disponível em: <http://www.academicjournals.org/journal/JECE/article-full-text-pdf/7710EDA3227>. Acesso em: 24 abr. 2021.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Antimicrobial resistance: global report n surveillance**. Genebra – Suíça, 2014. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748\\_eng.pdf?sequence=](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf?sequence=). Acesso em: 24 abr. 2021.

PARAGINSKI, G.L. **Triazenos: clivagem do dna, atividade antibacteriana e toxicidade frente à artemia salina**. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências da Saúde -

Universidade Federal de Santa Maria do Rio Grande do Sul, 2007. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5874/GUSTAVOPARAGINSKI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 23 set. 2021.

PARAGINSKI, G. L.; BERTICELLIA, C. R.; ZAMBLAZIA, P. J.; PARAGINSKIA, V. T. K.; HÖRNER, M.; SANTOS, A. J. R. W. A.; HÖRNER, R. Atividade antibacteriana in vitro e toxicidade frente à artemia salina leach. de alguns compostos triazenos. **Química nova**, Vol. 37, No. 7, 1138-1144, 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/qn/v37n7/v37n7a06.pdf>. Acesso em: 31 mar. 2021.

ROCHA, D. P.; PINTO, G. F.; RUGGIERO, R.; OLIVEIRA, C. A.; GUERRA, W. Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química nova**, v. 34, n. 1, p. 111-118, 2011. Disponível em: [http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol34No1\\_111\\_21-RV10053.pdf](http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol34No1_111_21-RV10053.pdf). Acesso em: 01 nov. 2021.

RODRIGUES, J. N. **Correlação entre citotoxicidade, alterações cromossômicas e atividade antibacteriana de compostos triazenos em células de medula óssea**. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Santa Maria do Rio Grande do Sul, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/5986/RODRIGUES%2C%20JACQUELINE%20NUNES.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 15 out. 2021.

ROSA, E.; CARVALHO, E.; CHENG, S. C.; FERNANDES, L.; ILEY, J.; MOREIRA, R.; NUNES, A.; RUECROFT, G. Triazenos antitumorais: mecanismo de ação biológica e desenvolvimento de pró-fármacos. **Separata da revista portuguesa de farmácia**, 1992, XLI: 7-14.

SANADA, M. **Dna repair**, 3, 413, 2004.

SEJAS, L. M. SILBERT, S.; REIS, A. O.; SADER, H. S. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial**. v. 39, n.1, 2003. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-24442003000100006](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442003000100006). Acesso em: 20 nov. 2021.

SILVA, A. O. **Avaliação dos efeitos antitumorais agudos e crônicos em resposta ao tratamento com temozolomida e sua combinação com vimblastina e mebendazole em células de glioblastoma**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, 2016. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/150589/001008137.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 22 jul. 2021.

SOARES, I. C.; GARCIA, P. C. **Resistência bacteriana: a relação entre o consumo indiscriminado de antibióticos e o surgimento de superbactérias**. Faculdade Atenas, 2020. Disponível em: [http://www.atenas.edu.br/uniatenas/assets/files/magazines/RESISTENCIA\\_BACTERIANA\\_a\\_relacao\\_entre\\_o\\_consumo\\_indiscriminado\\_de\\_antibioticos\\_e\\_o\\_surgimento\\_de\\_superbacterias1.pdf](http://www.atenas.edu.br/uniatenas/assets/files/magazines/RESISTENCIA_BACTERIANA_a_relacao_entre_o_consumo_indiscriminado_de_antibioticos_e_o_surgimento_de_superbacterias1.pdf). Acesso em: 16 jun. 2021.

SOUSA, L. U. **Avaliação das atividades citotóxica e antibacteriana de compostos triazenos**. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Santa Maria do Rio Grande do Sul, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/6009/SOUSA%2c%20LILIANA%20URDANGARIN%20DE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 03 set. 2021.

SOUZA, S. P. **Análise do potencial antibacteriano de novos compostos da classe triazenos** -Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) licenciatura em química - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2018. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br:8080/jspui/handle/1/6111>. Acesso em: 22 mai. 2021.

ÜNSALAN, S.; ÇIKLA, P.; KÜÇÜKGÜZEL, Ü. G.; ROLLAS, S.; ÜAHIN, F.; BAYRAK, Ö. F. Synthesis and characterization of triazenes derived from sulfonamides. **Marmara pharmaceutical journal** 15: 11-17, 2011. Disponível em: [http://www.jrespharm.com/uploads/pdf/pdf\\_MPJ\\_258.pdf](http://www.jrespharm.com/uploads/pdf/pdf_MPJ_258.pdf). Acesso em: 15 ago. 2021.

VAUGHAN, K.; LITTLE, V. R.; BERTOLASI, V. J. **chem. crystallogr.** 40:807-811, 2010.

VERNIN, G.; SIV, C.; METEZGER, J. **Synthesis**; 691, 1977.

ZHAO, S.; XIA, X.; XIANGWEN, K.; LIU, T. Highly sensitive colour-reaction of nickel with a new chromogenic reagent benzothiazolyldiazoaminoazobenzene and its application. **Talanta**, v.45, p.13-17, 1997.