

T  
967

81623

81623



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**  
**PREPARACIÓN DE FARMOQUÍMICOS**

**“OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS DE MENTOL Y  
MENTONA”**

**COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS**

**PRESENTA**

**QFB. STEPHANÍA VELÁZQUEZ OLVERA**  
**MATRÍCULA 208180822**

**COMITÉ TUTORIAL**

**TUTOR: DR. HÉCTOR JAIME SALGADO ZAMORA**

**ASESOR: DR. CUAUHTÉMOC PÉREZ GONZÁLEZ**

**ASESOR: DR. CARLOS TOMÁS QUIRINO BARREDA**

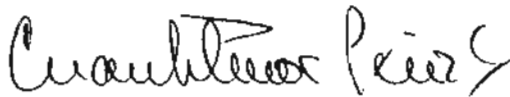
**DICIEMBRE, 2009**

**“OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS DE MENTOL Y  
MENTONA”**

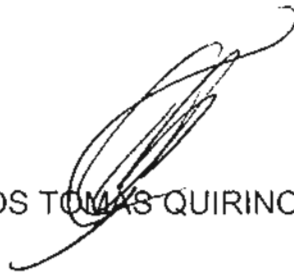
VISTO BUENO (Vo. Bo.) DEL CÓMITE TUTORIAL



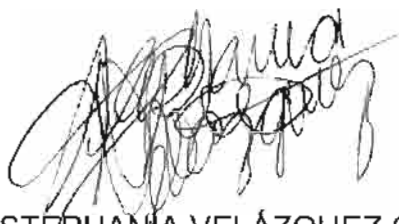
TUTOR: DR. HÉCTOR JAIME SALGADO ZAMORA



ASESOR: DR. CUAUHTÉMOC PÉREZ GONZÁLEZ



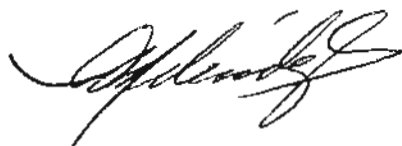
ASESOR: DR. CARLOS TOMÁS QUIRINO BARREDA



QFB. STEPHANIA VELÁZQUEZ OLVERA  
MATRÍCULA 208180822

**“OBTENCIÓN Y EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DE DERIVADOS DE MENTOL Y  
MENTONA”**

VISTO BUENO (Vo. Bo.) DEL JURADO



PRESIDENTA: DRA. MARIA ESTELA MELENDEZ CAMARGO



VOCAL: DR. GERARDO APARICIO OZORES



SECRETARIO: DR. CUAUHTÉMOC PÉREZ GONZÁLEZ

**Parte de los resultados de este trabajo han sido presentados en el siguiente congreso:**

Síntesis y Estudios Preliminares de Actividad Antimicrobiana de Derivados de Mentol y Mentona. Velázquez Olvera Stephanía, Salgado Zamora Héctor, Pérez González Cuauhtémoc, Arias García Lucina, Campos Ma. Elena, Pérez Gutiérrez Ma. Salud. XLII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas. Cancún, Quintana Roo. Octubre 18 – 22, 2009.

## **Del Libro de la Sabiduría**

Supliqué y se me concedió la inteligencia;  
invoqué y vino sobre mí el espíritu de sabiduría.

La preferí a los cetros y a los tronos,  
y en comparación con ella tuve en nada la riqueza.  
No se puede comparar con la piedra más preciosa,  
porque todo el oro, junto a ella,  
es un poco de arena y la plata es como lodo en su presencia.

La tuve en más que la salud y la belleza;  
la preferí a la luz, porque su resplandor nunca se apaga.

Todos los bienes me vinieron con ella;  
sus manos me trajeron riquezas incontables.

Porque Dios ama al que vive con sabiduría;  
la cual es más hermosa que la luz,  
y si a ella la alcanza la oscuridad,  
la malicia no prevalece sobre la sabiduría.

## RESUMEN

Las enfermedades producidas por bacterias y levaduras han existido desde siempre y continúan siendo un grave problema de salud pública, el cual afecta a una parte importante de la población. Aún cuando se han implementado medidas preventivas, las enfermedades prevalecen, teniéndose que recurrir al empleo de la fármaco-terapia. La estructura química de los productos empleados en el tratamiento de las enfermedades es muy variable y entre ellos se encuentran productos naturales como terpenos. El mentol y la mentona son ejemplos de monoterpenos que presentan actividad antibacteriana y antifúngica.

En el presente estudio se obtuvieron derivados de mentol y mentona con el propósito de evaluar *in vitro* una posible actividad antimicrobiana asociada a los mismos. De acuerdo a lo anterior, se sintetizó acetato de mentilo, y los derivados nitrogenados de mentona; como son: oxima, fenilhidrazona y bencilimina mediante la adaptación de protocolos establecidos en la literatura y en algunos casos empleando energías alternas como la de microondas. Todos los derivados fueron identificados y caracterizados aplicando métodos espectroscópicos convencionales, incluyendo infrarrojo y resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Se llevaron a cabo pruebas de solubilidad de los compuestos a ensayar y se procedió a realizar la evaluación de la actividad antimicrobiana empleando el método de agar en difusión. Las bacterias seleccionadas fueron: *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella entérica serotipo Typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* y la levadura *Candida albicans*. Las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) de la mentona fenilhidrazona y de la mentona oxima se obtuvieron por el método de dilución en tubo. Los diámetros de la prueba de difusión en agar para *S. aureus* de la mentona fenilhidrazona fueron de 1.13 cm a 600  $\mu\text{g/mL}$ , 1.17 cm a 300  $\mu\text{g/mL}$ , 1.03 cm a 150  $\mu\text{g/mL}$  y 1.07 cm a 75  $\mu\text{g/mL}$  y para *Candida albicans* de 0.27 cm a 600  $\mu\text{g/mL}$  y 0.2 cm a 300  $\mu\text{g/mL}$ . Para el caso de *C. albicans* de la mentona oxima fueron de: 0.27 cm a 600  $\mu\text{g/mL}$  y 0.13 cm a 300  $\mu\text{g/mL}$ . Las concentraciones mínimas de la mentona fenilhidrazona en la prueba de dilución en tubo de *S. aureus*, fue de: 75  $\mu\text{g/mL}$ . La CMI de la mentona oxima para *C. albicans* fue de 37.5  $\mu\text{g/mL}$ ; mientras que para la mentona fenilhidrazona fue de 18.8  $\mu\text{g/mL}$ . Estos resultados demostraron que la mentona fenilhidrazona presenta actividad bactericida y fungicida. La mentona oxima resultó únicamente fungicida. Por otra parte se evaluó la toxicidad aguda de los derivados obtenidos, a dosis de 5000, 2500, 1250 y 625 mg/kg de peso de ratón, demostrándose que tanto la mentona fenilhidrazona, como la mentona oxima no son letales a estas concentraciones.

**PALABRAS CLAVES:** Mentona oxima, mentona fenilhidrazona, actividad antimicrobiana, prueba de difusión en agar, prueba de dilución en tubo, prueba de toxicidad aguda.

## AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

- El presente trabajo se realizó en el Laboratorio Dr. Cuauhtémoc Pérez Gutiérrez de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Laboratorio de Química Orgánica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, Laboratorio de Bacteriología Médica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, y en el Laboratorio de Inmunoparasitología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Bajo la dirección del Doctor Héctor Jaime Salgado Zamora.
- Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) su gran apoyo económico y académico beca CONACYT 216552; ya que sin él no hubiera sido posible realizar mi proyecto de investigación.
- Agradezco a la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco por la extraordinaria oportunidad que me brindó al recibirme en su División de Ciencias Biológicas y de la Salud para obtener el grado de Maestra en Ciencias Farmacéuticas.
- Un cariñoso agradecimiento a mi tutora CONACYT, la Dra. Herminia Pérez Méndez.
- Agradezco al plantel académico de la Maestría en Ciencias Farmacéuticas por sus enseñanzas, dedicación y extraordinario apoyo: aquí mil gracias al Dr. Carlos Tomás Quirino, Dr. Héctor Salgado, Dra. Marina Altagracia, Dr. Jaime Krazov, M. en C. Norma Angélica Noguez, Dra. Patricia Aceves, Dra. Marisol López, Dra. Marisa Cabeza, M. en C. Chiharu Murata, Dra. Teresa Izquierdo, Dr. Francisco López, Dra. Rosario Cárdenas, M. en C. Carlos Ramos.
- Agradezco al Laboratorio Dr. Cuauhtémoc Pérez Gutiérrez de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, muy especialmente al Dr. Cuauhtémoc Pérez González, a la Dra. Ma. Salud Pérez Gutiérrez, a la Dra. Lucina Arias García y al Q.F.B. Alejandro Díaz Martínez.
- Laboratorio de Inmunoparasitología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, en especial a la Dra. Julia Pérez Ramos y a la Q.F.B. Ana Laura Esquivel Campos.



- Laboratorio de Bacteriología Médica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, en especial al Dr. Gerardo Aparicio Ozores.
- Agradezco al Laboratorio de Química Orgánica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, en especial al Dr. Héctor Salgado Zamora, a la Dra. Ma. Elena Campos Aldrete, a la Q.F.I. Patricia Mendoza Hernández y a la M. en C. Blanca Santoyo Tepole.
- Agradezco a Offenbach Mexicana, S. A. de C. V., por su gran apoyo, en especial la gentileza de la Q. Sara Leticia Sánchez.
- Agradezco con mucho cariño a mis compañeros de Generación 2008 de Maestría en Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco: Q.F.B. Azucena Martínez Damián, Q.F.B. Alfonso Toro Córdova y el Q.F.B. Irvin Fabián Bonola Gallardo.

## AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Dedico mi tesis:

- A Dios por su infinito amor y por darme una gran fortuna.
- A mis adorados padres Alicia y Joaquín Alfredo por su inmenso amor y porque gracias a su ejemplo, a lo que son y hacen, yo soy, estoy y hago en esta vida.
- A mi querido hermano Joaquín Alfredo por la fabulosa conexión que tenemos, por la que nos comunicamos, nos ayudamos y apoyamos.
- A la memoria de mis abuelos: Luis Olvera Rubio y Manuel Velázquez Sánchez; y mis abuelas: Guadalupe Olvera Cortes y Eufrosina Garduño García; de los cuales llevo grabada su amorosa huella en mi mente y en mi corazón.
- A mis tíos: Luis y Memo; tías: Yola, Lucy, Celi, Car, Meche y Chuy; primos: Daniel, Juan Luis, Luis, Julián y Alejandro; primas: Adriana, Alejandra, Mary, Daniela y Pau; sobrinos: Alejandro, Emiliano y Mau; y mis sobrinas: Sofi, Vane y Ana Pau; porque han llenado mi vida de alegría.
- A mi prima Adriana y a mi ahijada Ana Paula por quererme y apoyarme.
- A mi padrino Fray Miguel Ochoa por su gran amor.
- A todos y cada uno de mis maestros por el legado de sus conocimientos.
- A mis amigos: Susy, Poncho, Irvin, Mare, Betsa, Beto, Alex, Ana, Paty, Ivonne, Yaneth, Carmina; por su cariño y comprensión.
- Y un agradecimiento muy especial a mi queridísimo tutor, el Dr. Héctor Salgado por su cariño, sus enseñanzas, su extraordinario Don de Gente y su dulce, sapientísima y enérgica guía.
- Agradezco el entrañable e inconmensurable apoyo del Dr. Cuauhtémoc Pérez, de la Dra. Salud Pérez, de la Dra. Lucina Arias, de la Dra. Ma. Elena Campos, la Dra. Julia Pérez, la Dra. Herminia Pérez, el Dr. Gerardo Aparicio, la Q. Sara Sánchez y la Q. Martha Molina.
- Agradezco a la Dra. Cynthia Klinger por su enorme aportación para la realización de mi tesis.

# ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Contexto histórico.....	1
1.2 Mecanismos de defensa.....	3
1.3 Enfermedad.....	3
1.4 Microorganismos.....	4
1.5 Bacterias.....	4
1.6 Hongos.....	5
1.7 Agentes Antimicrobianos.....	5
1.7.1 Antimicrobianos de origen natural.....	5
1.7.2 Antimicrobianos de origen sintético.....	8
1.7.3 Propiedades del antimicrobiano ideal.....	8
2. ANTECEDENTES.....	10
2.1 Monoterpenos.....	10
2.2 Profármacos.....	12
3. MARCO TEÓRICO.....	14
3.1 Propiedades antimicrobianas del mentol.....	14
3.2 Propiedades antimicrobianas de la mentona.....	16
3.3 Propiedades antimicrobianas de los derivados del mentol y mentona.....	18
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	21
5. HIPÓTESIS.....	21
6. OBJETIVO GENERAL.....	22
7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
8. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
9. PARTE EXPERIMENTAL.....	24
9.1 Sección química.....	24
9.1.1 Preparación del acetato de mentilo.....	24
9.1.2 Preparación de la mentona.....	25
9.1.3 Preparación de la mentona oxima.....	26
9.1.4 Preparación de la mentona tiosemicarbazona.....	27
9.1.5 Preparación de la Mentona fenilhidrazona.....	28

9.1.5.1	Primera técnica de síntesis.....	28
9.1.5.2	Segunda técnica de síntesis.....	28
9.1.5.3	Tercera técnica de síntesis.....	29
9.1.5.4	Cuarta técnica de síntesis .....	29
9.1.6	Preparación de 3-nitroimidazo[1,2-a]piridina-2- carboxilato de etilo.....	30
9.1.7	Preparación de 3-aminoimidazo[1,2-a]piridina-2- carboxilato de etilo.....	31
9.1.8	Técnicas empleadas para la condensación de la mentona con la amina derivada de imidazopirridina.....	32
9.1.8.1	Primera técnica de síntesis.....	32
9.1.8.2	Segunda técnica de síntesis.....	33
9.1.8.3	Tercera técnica de síntesis.....	33
9.1.8.4	Cuarta técnica de síntesis.....	33
9.1.9	Preparación de la ciclohexilimina de la mentona.....	34
9.1.10	Preparación de la bencilimina de la mentona.....	34
9.2	Determinación de la sensibilidad de la bacterias a los derivados del mentol y mentona.....	35
9.2.1	Pruebas de solubilidad de los derivados de mentol y mentona.....	35
9.2.2	Preparación de las soluciones patrón.....	36
9.2.3	Preparación de sensidiscos con los compuestos a evaluar.....	36
9.2.4	Técnica de difusión en agar para determinar la actividad antimicrobiana.....	37
9.2.5	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los derivados de mentol y mentona a través de la técnica de dilución en caldo.....	39
10.	PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA DE LOS DERIVADOS DE MENTOL Y MENTONA.....	40
10.1	Método de evaluación.....	40
10.2	Compuestos a evaluar.....	40
10.3	Modelo animal.....	40

10.4	Procedimiento experimental.....	41
11.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	42
11.1	Análisis químico.....	42
11.1.1	Acetato de mentilo.....	42
11.1.2	Mentona.....	43
11.1.3	Mentona oxima.....	44
11.1.4	Mentona tiosemicarbazona.....	44
11.1.5	Mentona fenilhidrazona.....	45
11.1.6	Ciclohexilimina de la mentona.....	47
11.1.7	Bencilimina de la mentona.....	47
11.2	Análisis biológico.....	48
11.2.1	Técnica de difusión en agar.....	49
11.2.2	Técnica de dilución en caldo con <i>Staphylococcus aureus</i> .....	55
11.2.3	Técnica de difusión en agar con <i>Candida albicans</i> .....	57
11.2.4	Técnica de dilución en caldo con <i>Candida albicans</i> .....	59
11.2.5	Pruebas de toxicidad aguda.....	61
12.	CONCLUSIONES.....	64
13.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
14.	ANEXO 1 Espectros de IR, 1H-RMN y 13C-RMN.....	68
15.	ANEXO 2 Fármacos para el tratamiento de la infección causada por <i>Staphylococcus aureus</i> .....	88
16.	ANEXO 3 Fármacos para el tratamiento de la infección causada por <i>Candida albicans</i> .....	105

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Contexto histórico

La vida en nuestro planeta es sobretodo microbiana. En palabras de Margulis y Sagan (1995): "...formamos parte de una intrincada trama que procede de la original conquista de la Tierra por las bacterias...". Los seres humanos estamos formados por células provistas de núcleo, especializadas y organizadas en tejidos; pero nuestras superficies están cubiertas de microbios, nuestros microbios (microbiota humana).

En condiciones normales existe un equilibrio complejo entre tejidos y microbios humanos, cuya consecuencia más evidente es el estado de salud. Los microbios ambientales tienen escasa capacidad de atravesar o desplazar a nuestra microbiota y apenas invaden los tejidos humanos sanos.

Con un enfoque naturista, las enfermedades se pueden interpretar como crisis que desequilibran el estado de salud. La mayoría de las veces las crisis infecciosas se resuelven con rapidez, en días o semanas, y sin grave quebranto para las personas. Son escasas las ocasiones en que los microbios se comportan como gérmenes patógenos, con capacidad de producir enfermedades graves o persistentes en personas sanas (Marcen, 2000).

La idea y aun el intento de usar sustancias derivadas de un microorganismo vivo para matar a otro son casi tan viejos como la ciencia misma. Al margen de este desarrollo, a través de los siglos encontramos en antiguos documentos de literatura médica que aparecen referencias a tratamientos de enfermedades infecciosas, los cuales describen los resultados favorables obtenidos en ciertas infecciones localizadas, con la aplicación de tierra y plantas productoras de antibióticos. De hecho, la aplicación de la terapia antibiótica, sin que fuese reconocida como tal, la practicaban los chinos hace más de 2500 años, cuando ya conocían las propiedades terapéuticas de la cuajada mohosa de soya para los furúnculos y otras infecciones del mismo tipo, en las que la empleaban como tratamiento básico (Marcen, 2000).

En el último cuarto del siglo XIX, a partir de los estudios de Pasteur, Koch y Joubert, se demostró la implicación microbiana en la génesis de varias enfermedades epidémicas. Ya que reconocieron la potencialidad clínica de los microorganismos como agentes terapéuticos y relataron sus observaciones y consideraciones en 1877. La difusión de la Teoría del Germen Microbiano supuso un importante cambio de paradigma en los estudios epidemiológicos: por fin se podían entender un grupo de enfermedades que ocasionaban elevada morbilidad y mortalidad en las comunidades humanas (Kuhn, 1975). Una de las primeras consecuencias de la Teoría del Germen Microbiano fue el empleo de nuevos desinfectantes (fenol, formol, etc.) aplicados en el ambiente o en las superficies como antisépticos externos (Marcen, 2000). Hoy como ayer existe cierto consenso a la hora de implicar a factores no microbianos en la génesis de las enfermedades infecciosas (nutrición, condiciones de trabajo, pobreza, fallas inmunológicas), pero la antigua creencia en los demonios invisibles de la enfermedad ha renacido con los hallazgos de la Microbiología Clínica (Fleck, 1986).

A principios del siglo XX, Ehrlich propuso la teoría de las balas mágicas, sustancias químicas que atraviesan los campos celulares humanos destruyendo solamente a ciertos microbios; entre esas sustancias, se encuentran los antipalúdicos, las sulfonamidas y las quinolonas. La época moderna comienza en 1936, con el uso clínico de la sulfanilamida (Weinstein, Cap. 55, Goodman et al., 1991). En la Segunda Guerra Mundial se desarrollaron los procedimientos de fabricación industrial de la penicilina. Así empezó la "Edad de Oro" de la terapia antimicrobiana en 1941 a partir de los cultivos de hongos descubiertos por Fleming en 1929, y la realización de los primeros ensayos clínicos (Marcen, 2000).

Desde el descubrimiento de la estreptomycin por Schatz y colaboradores (1944), se ha procurado seguir, un método cuidadosamente planeado y trazado en forma científica para la investigación de nuevas sustancias de este tipo (Weinstein, Cap. 55, Goodman et al., 1991).

## *1.2 Mecanismos de defensa*

Conservar los microorganismos invasores fuera del cuerpo y destruir a cualquiera que se introduzca son las misiones de nuestro sistema de defensa.

Se puede decir que existe una batalla constante entre nuestro organismo y los microorganismos invasores que nos rodean, nuestra primera barrera defensiva es la integridad de la piel y las mucosas, la otra respuesta defensiva es la reacción inmune que crea mecanismos de defensa guardando esta información en la memoria de los glóbulos blancos, para actuar con mayor efectividad en el siguiente ataque, sin embargo este mecanismo no es siempre posible y efectivo, por lo que se hace necesario el ayudar a nuestros mecanismos de defensa con otras armas que ayudan a destruir al microorganismo invasor, en general estos se llaman antimicrobianos, ya que actúan contra cualquier tipo de microbios como pueden ser: bacterias, hongos y virus (Velázquez, 2009).

La respuesta de defensa contra el ataque de microorganismos patógenos, está coordinada tanto espacial como temporalmente para una contención rápida del microorganismo patógeno, por lo que puede ser local, conocida como respuesta sistémica (Marcen, 2000).

## *1.3 Enfermedad*

El conocer la interacción existente entre germen-huésped-antimicrobiano es fundamental para comprender la fisiopatología de las enfermedades infecciosas. Así el germen es el productor de la enfermedad, el huésped es el individuo en el que se desarrolla la enfermedad y el antimicrobiano es el que va a destruir al agente etiológico de la enfermedad. El germen ataca al huésped y le produce infección, el huésped se defiende del germen con una acción inmunológica que destruye al germen. El antimicrobiano colabora con el huésped para destruir al germen, sin embargo el huésped metaboliza o elimina rápidamente al antimicrobiano, haciendo que su acción termine. El antimicrobiano a veces le produce al huésped toxicidad alterando sus



componentes celulares. Cuando el antimicrobiano es el adecuado, el germen sensible es destruido, a su vez el germen por un mal uso de los antimicrobianos produce mecanismos de defensa creando resistencia hacia el antimicrobiano (Velázquez, 2009).

#### 1.4 Microorganismos

Los microorganismos que invaden el cuerpo viven en cualquier sitio: en el aire, alimentos y plantas, en animales y dentro de los mismos, en el suelo y el agua y virtualmente en cualquier otra superficie. Varían de microorganismos microscópicos a organismos más grandes. La inmensa mayoría de estos microorganismos no causa enfermedades porque se conservan controlados por el sistema inmune de la persona. Pero cuando el sistema inmune se debilita o encuentra un microorganismo para el cual no ha formado resistencia, es posible que se presente una enfermedad. Varios microorganismos pueden causar enfermedades infecciosas.

#### 1.5 Bacterias

Las bacterias son microorganismos unicelulares que sólo pueden observarse al microscopio. Se presentan en diferentes formas como bastones (bacilos) o células redondas (cocos), son autosuficientes y se multiplican por bipartición.

Cuando penetran en el cuerpo bacterias infecciosas, aumentan de número y algunas pueden producir diferentes sustancias llamadas toxinas que dañan células específicas en el tejido que invaden y dan lugar a que enferme el huésped.

De los grupos más comunes de bacterias que causan enfermedades incluyen *Staphylococcus*, *Escherichia* (cuya principal especie es la bien conocida *E. coli*), *Streptococcus*, *Chlamydia*, *Haemophilus*, *Neisseria* y *Rickettsia*.

No todos los microorganismos son perjudiciales. Algunos que residen en el cuerpo, la boca y en el tracto intestinal; son benéficas y forman parte de la biota normal (Litin, 2005).

## 1.6 Hongos

Los mohos, las levaduras y las setas son tres tipos de hongos. Obviamente, las setas no son infecciosas, pero sí pueden serlo ciertas levaduras y mohos. Estos microorganismos unicelulares son ligeramente más grandes que las bacterias. Un ejemplo de una levadura que causa infección es *Candida albicans*, que puede producir "algondoncillo", una infección de la boca y garganta en lactantes, personas que toman antibióticos y pacientes con deterioro de la inmunidad. Asimismo, origina casi todos los tipos de exantema del pañal causado por infección.

## 1.7 Agentes antimicrobianos

Se dispone de medicamentos para combatir las infecciones que el sistema inmune no puede manejar en un momento dado. Las infecciones bacterianas pueden tratarse con antimicrobianos, sustancias producidas por microorganismos y que se utilizan para destruir bacterias que compiten en su hábitat. Algunos antimicrobianos se producen a partir de la modificación de los existentes. (Litin, 2005).

### 1.7.1 Antimicrobianos de origen natural

En la actualidad, se conocen aproximadamente 20,000 estructuras de los agentes antimicrobianos naturales que por su composición química son clasificados en dos grupos principales: nitrogenados y no nitrogenados. Los agentes antimicrobianos naturales que contienen nitrógeno incluyen a los alcaloides, aminoácidos no proteicos, aminas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos. Los agentes antimicrobianos no nitrogenados se dividen en terpenos, poliacetilenos, policétidos, fenilpropanoides (Sepúlveda et. al., 2003).

Estos compuestos se obtienen a partir de microorganismos como hongos y bacterias. La mayoría de estos son compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, ácidos e isoflavonoides. Los cuales son identificados como compuestos que actúan principalmente sobre las membranas de los microorganismos invasores (Woo et. al., 2008). Desde la antigüedad, en todo el mundo; y sobretodo con mucha sabiduría en México, que posee gran biodiversidad natural; los remedios naturales y en especial las plantas medicinales fueron el principal e incluso el único recurso de que disponía el médico.

En la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina y la industria farmacéutica moderna tiene como funciones estudiar los efectos terapéuticos de las plantas con el fin de precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades de los principios activos responsables de detener, aliviar o curar enfermedades. Asimismo, busca aislar los principios activos, y determinar sus estructuras químicas, procurar su síntesis, proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad y, finalmente, dar a conocer a la humanidad los resultados de los estudios. Un análisis de esta naturaleza debe ser realizado como una acción multidisciplinaria con la intervención de botánicos, químicos, farmacólogos, farmacognostas, entre otros.

Por otro lado el aislamiento y conocimiento estructural de los compuestos de las plantas podría permitir el diseño de productos con diversas actividades farmacológicas incluyendo la antimicrobiana. La evaluación de la respuesta farmacológica de productos sintetizados por medio de modificaciones estructurales es una actividad común en la investigación farmoquímica.

En los últimos años, la industria farmacéutica, los médicos y los grupos de investigación de numerosos países empiezan a interesarse por los derivados semisintéticos provenientes de los metabolitos naturales, los cuales son importantes ya que son necesarios para la fabricación de medicamentos elaborados. El uso de los derivados semisintéticos ha mostrado tener un gran valor terapéutico aunado al económico; ya que son utilizados hoy en día como materias primas (Marcen, 2000).

Entre los productos naturales más estudiados se encuentran los terpenos. Con el nombre de terpenos se conoce a un grupo importante de componentes vegetales que tienen un origen biosintético común. Todos, aunque con estructuras químicas muy distintas, proceden de la condensación, en número variable, de unidades isoprenicas y su fórmula general es  $C_{10}H_{16}$ . Los terpenos pueden ser letales para las células microbianas o simplemente inhiben la actividad metabólica de bacterias, virus, hongos y protozoarios. Los sitios de acción sobre los que actúan los terpenos en la célula microbiana, incluyen a la membrana celular, pared celular, enzimas metabólicas y afectan la síntesis de proteínas. Los sitios mencionados son estratégicos para la supervivencia de los microorganismos y cualquier acción sobre ellos depende de las concentraciones de los terpenos utilizadas para que puedan causar la inhibición o inactivación de los microorganismos. De tal forma que a un microorganismo patógeno le resulta más difícil infectarse en la presencia de un terpeno o en una mezcla de ellos (Trombetta et. al., 2005).

También se ha identificado que los terpenos actúan bloqueando pasos metabólicos en la formación de las bases puricas o pirimidicas, siendo capaces de sustituirlas en la formación de los ácidos nucleicos e impidiendo así la duplicación de la cromatina y la reproducción celular; por tal motivo, algunos de estos compuestos tienen importancia terapéutica (Fariás, 1999).

El redescubrimiento del valor antimicrobiano de estos compuestos aromáticos, a principios del siglo XX, se le atribuye al Dr. René-Maurice Gattefossé, químico cosmólogo francés, quien investigó el efecto curativo de éstos al experimentar que la gangrena de sus manos, producida por un accidente de laboratorio, se detuvo al enjuagarse con aceite esencial de lavanda y es a partir de este momento que en diferentes campos del conocimiento (medicina, cosmetología, industria alimentaria, productos de limpieza, etc.) resurge el interés por investigar con mayor profundidad las propiedades de los terpenos, encontrándose que exhiben propiedades antifúngicas, antivirales, antitoxigénicas e incluso insecticidas (Bosquez-Molina et. al., 2009).

### 1.7.2 Antimicrobianos de origen sintético

Son diseñados y producidos en el laboratorio a través de procesos de síntesis orgánica. Los antimicrobianos sintéticos son tan viejos como los naturales porque las pequeñas modificaciones realizadas en sus estructuras son inducidas para mejorar su solubilidad; su mecanismo de acción, el cual es similar a su farmacóforo base y su vía de administración. En este estudio se pretende sintetizar algunos derivados sintéticos de mentol y mentona, entre los cuales se puede mencionar al acetato de mentilo,  $C_{12}H_{22}O_2$ , el cual se utiliza como analéptico y antineurálgico (Gildemeister, 1993). Asimismo, la oxima de la mentona,  $C_9H_{17}CN$ , es ampliamente utilizada en perfumes; como el fijador de la fragancia (Zhukouskaya et. al., 2006).

Actualmente se conocen centenares de antimicrobianos sintéticos, y más de 40 son útiles en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Estas sustancias presentan diferencias considerables en sus propiedades químicas, físicas y farmacológicas, en el espectro antibacteriano y en el mecanismo de acción. (Weinstein, Cap. 55, Goodman et al., 1991).

### 1.7.3 Propiedades del antimicrobiano ideal

Los antimicrobianos constituyen la base fundamental del tratamiento de las enfermedades infecciosas (Velázquez, 2009). Los agentes antimicrobianos deben reunir las siguientes propiedades para ser considerados como ideales: deben tener actividad selectiva y eficaz; deben ser bactericidas; mantenerse activos y eficaces en presencia de líquidos corporales, exudados, proteínas plasmáticas, plasma y enzimas tisulares; que sean efectivos frente a un amplio espectro de microorganismos; no deben ser tóxicos y los efectos colaterales adversos tienen que ser mínimos para el individuo que consume dichos compuestos; es indispensable un índice terapéutico satisfactorio tanto para el uso en casos agudos como en los crónicos, es decir, su concentración activa frente a los microorganismos se debe alcanzar con rapidez y debe mantenerse durante un tiempo prolongado; deben ser hidro y liposolubles; no debe de actuar como

agente sensibilizante ni alterar órganos o funciones vitales; deben ser estables a temperatura ambiente, tanto en estado seco como en solución, son propiedades muy convenientes; la conservación de la eficacia después de la administración por diferentes vías es una gran ventaja, sobre todo si se trata de la vía oral; la absorción, distribución, metabolismo y excreción deben ser tales que permitan alcanzar rápidamente y mantener por largo tiempo concentraciones bactericidas en la sangre, tejidos y líquidos corporales; la excreción no debe provocar lesiones renales y deben poder elaborarse en cantidades suficientes y a bajo costo.

Según los conocimientos más recientes, todos los agentes antimicrobianos son eficaces porque actúan directamente sobre el parásito y no porque intensifiquen los mecanismos naturales de defensa del huésped. El resultado primordial de la actividad antimicrobiana se traduce por un retraso en el desarrollo bacteriano. Cuando su concentración es lo suficientemente elevada, algunos antimicrobianos matan las bacterias tanto *in vivo* como *in vitro*. Sin embargo, debemos recalcar que los agentes antimicrobianos, aun los más poderosos, no curan, salvo en casos excepcionales, requiriéndose la intervención de los mecanismos de defensa humoral y celular del huésped. De ese modo, cuando se administran grandes dosis de sustancias terapéuticas al principio de algunas infecciones, se observa la disminución, retardo o supresión de las respuestas específicas de inmunidad (Weinstein, Cap. 55, Goodman et al., 1991).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Monoterpenos

Las propiedades antibacteriales de los terpenos son explotadas en diversos productos tales como: pastas dentales, antisépticos, conservadores y suplementos alimenticios (Marcen, 2000).

Al producto natural mentol y su derivado carbonílico la mentona, base de la presente investigación se les han atribuido propiedades antimicrobianas y antifúngicas, las cuales han despertado grandes expectativas en su posible uso farmacéutico. La modificación estructural sencilla pero específica sobre este par de compuestos generará productos que probablemente conserven el mismo tipo de actividad, actuando como profármacos; recordando que un profármaco es un precursor del principio activo. Sin embargo, es evidente que la modificación estructural realizada por muy sencilla que sea, alterará la respuesta biológica pues al modificar aspectos estructurales también se afectan propiedades fisicoquímicas, solubilidad, preferencia conformacional, entre otras (Cardinoga, 1999).

En esta investigación se pretende realizar una evaluación de la actividad antimicrobiana de derivados de mentol y mentona, contra diversas especies de bacterias y una levadura: *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. dysenteriae*, *S. entérica serotipo Typhimurium*, y *C. albicans*; para su posible uso como profármacos.

El mentol es un monoterpeno, un alcohol secundario, saturado, co fórmula condensada  $C_{10}H_{20}O$  (Figura 1), el cual se encuentra en los aceites esenciales de menta (*Mentha piperita*). Es un sólido cristalino blanquecino, con forma de agujas, que funde alrededor de los 40°C, con un punto de ebullición de 212 °C, una densidad de 0.890 kg/m<sup>3</sup>, un índice de refracción de 1.458, y cuya rotación óptica va de -49° a -50°, es insoluble en agua; muy soluble en etanol, cloroformo, éter y éter de petróleo (Heilbron et al., 1953; Merck, 1983). Fue aislado por primera vez por Gaubius en 1779 a

partir de la *Mentha piperita* y se emplea en medicina y en algunos cigarrillos porque posee un efecto refrescante sobre las mucosas.

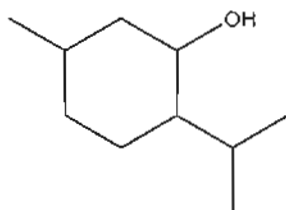


Figura 1. Estructura química del mentol

La mentona es una cetona monoterpénica, con una fórmula condensada  $C_{10}H_{18}O$  (Figura 2); estructuralmente está relacionada con el mentol. La mentona es un líquido incoloro; con una densidad de 0.890 a 0.901  $kg/m^3$  y un punto de ebullición de 207 - 210  $^{\circ}C$ ; su índice de refracción es de 1.449 a 1.455 y su rotación óptica es de  $+5^{\circ}$  a  $+7^{\circ}$ ; es insoluble en agua (Heilbron et al., 1953; Merck, 1983). Fue sintetizada por primera vez en 1881 por Moriya a través de la oxidación del mentol con ácido crómico y calentamiento, antes de que se encontrara en los aceites esenciales en 1891. En medicina ha mostrado poseer actividad farmacológica similar a la del mentol, pero menos potente, ya que se hidroliza por las glándulas sudoríparas o por el pH del estómago (Clarke, 1969).

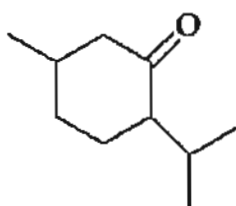


Figura 2 Estructura química de la mentona

Las estructuras químicas de los derivados de mentol y mentona que se pretenden estudiar se presentan en la Figura 3.



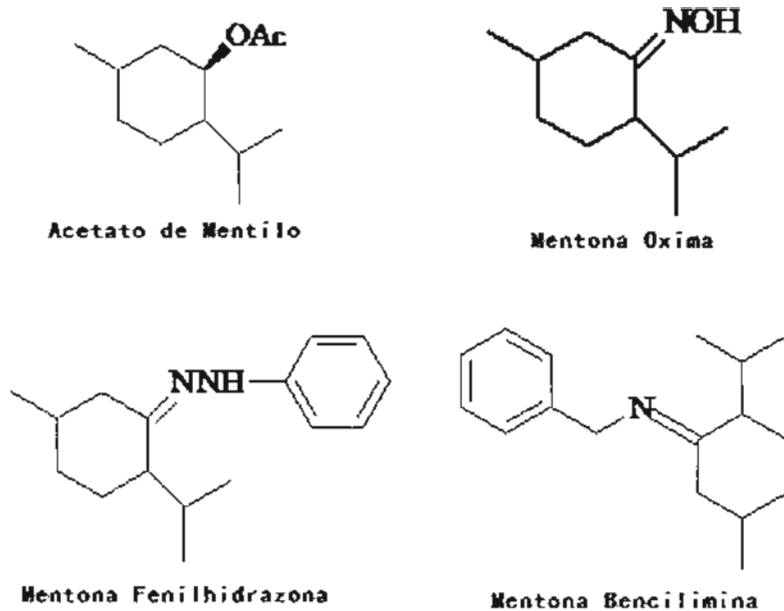


Fig. 3. Derivados del Mentol y de la Mentona

Los sitios de acción del mentol y de la mentona en la célula microbiana, incluyen a la membrana celular, enzimas metabólicas, todos ellos importantes para mantener la homeostasis de los microorganismos y cualquier acción sobre ellos puede ocasionar la muerte de los mismos dependiendo de las concentraciones utilizadas. (Trombetta et. al., 2005).

## 2.2 Profármacos

El término "profármaco" (prodrug) fue introducido por Albert en 1958 para designar a moléculas biológicamente inactivas que cuando son administradas al organismo, sufren una serie de transformaciones químicas, por lo general llevadas a cabo por enzimas, lo cual provoca la liberación del principio activo y con ello se origina la respuesta terapéutica.

Por lo que también se diseña y se sintetiza mediante modificaciones químicas a partir de la molécula original, obteniéndose ya sean mejoras a algunas características desde el punto de vista de su formulación: propiedades organolépticas, solubilidad; o de

su absorción, distribución, metabolismo y eliminación en el organismo (Cardinoga, 1999).

Cada antimicrobiano posee cierto campo de eficacia, cuyo principal factor determinante es el mecanismo de acción del mismo. La producción de resistencia por parte del microorganismo a esta acción no es un fenómeno general. Cuando se exponen las bacterias a un antimicrobiano, pueden desarrollar resistencia o tolerancia a dicho medicamento. Este fenómeno puede presentarse rápidamente o con lentitud.

Por el problema anterior, algunos antimicrobianos son menos útiles en la actualidad, de lo que fueron antes, por lo que se están desarrollando constantemente nuevos antimicrobianos.

A las bacterias les cuesta mayor trabajo desarrollar resistencia en contra de monoterpenos. El mentol y la mentona han demostrado tener actividad en contra de diferentes microorganismos, por lo que si se lleva a cabo la síntesis de derivados para probarlos como "profármacos", y de esa manera poder tratar un mayor número de enfermedades infecciosas.

### 3. MARCO TEÓRICO

El mentol y la mentona han demostrado tener propiedades antimicrobianas en contra de bacterias, hongos, virus y parásitos. Existen muchas dificultades para hacer la comparación de los resultados obtenidos por los distintos grupos de investigación que existen alrededor del mundo; ya que consideran diferentes variables según se requieran para el estudio. Sin embargo, hay semejanzas en los tipos de cepas de microorganismos que se han utilizado para evaluar al mentol y a la mentona; entre las cuales se encuentran: *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Listeria monocytogenes*, *P. aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Streptococcus* spp. y *S. aureus*.

#### 3.1 Propiedades antimicrobianas del mentol

En el estudio de Pattnaik y colaboradores (1997); en el cual se estudiaron cinco compuestos que constituyen algunos aceites esenciales (cineol, citral, geraniol, linalol y mentol) fueron probados por su actividad antimicrobiana en contra de ocho bacterias (incluyendo bacterias gram positivas y gram negativas) y doce hongos (tres levaduras y nueve filamentosos). En términos de actividad antimicrobiana el linalol fue el más efectivo ya que inhibió a diecisiete de los veinte microorganismos, le siguió el cineol, el geraniol (cada uno inhibió dieciséis de los veinte microorganismos), el mentol y el citral inhibieron quince y catorce de los veinte microorganismos, respectivamente. En contra de los hongos el citral y el geraniol fueron los más efectivos (inhibiendo los doce hongos), seguidos por el linalol (inhibió diez de los doce), el cineol y el mentol (cada uno inhibió siete de los doce hongos).

El objetivo del estudio de Demo y colaboradores (2000) fue evaluar la actividad antimicrobiana de diferentes componentes puros de aceites esenciales de origen natural. Fueron probados los siguientes componentes: geraniol, timol, mentol, limoneno,  $\alpha$  – pineno y 1,8 – cineol los que fueron enfrentados a bacterias gram positivas, tales como: *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* y gram negativas, como: *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* spp. y *P. aeruginosa*. Para probar la actividad antifúngica se utilizó *C. albicans*. Para el análisis de la actividad antimicrobiana se utilizó la técnica

de difusión en disco, utilizando 10µL de cada aceite y la técnica de difusión en pozo, utilizando 50µL. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para aquellos aceites que presentaron actividad antimicrobiana, utilizando la técnica de difusión de disco. Con esta técnica se observó que todos los compuestos probados presentaron capacidad antibacteriana, siendo timol, mentol y geraniol; los aceites que presentaron mayor efecto antimicrobiano, destacándose el timol que impidió el crecimiento de todos los microorganismos incluso de *P. aeruginosa*. La técnica de pozo permitió observar mayor espectro de inhibición, pudiéndose destacar la acción contra *P. aeruginosa* por el limoneno y 1,8 – cineol. Esta técnica también demostró que todos los aceites fueron efectivos contra *C. albicans*. Se realizó la CMI con mentol y timol que fueron los compuestos más efectivos, con mentol se obtienen títulos de ¼ para *B. cereus* y *S. aureus*, y 1/8 para *E. coli*. Para timol se obtuvieron títulos de 1/16 para *P. aeruginosa*, 1/32 para *B. cereus*, 1/64 para *S. epidermidis* y 1/128 para *S. aureus*, *E. coli*, *P. mirabilis* y *Klebsiella* spp. Por lo que la técnica de pozo fue la más eficiente para observar mayor espectro antimicrobiano de los aceites probados. Timol, limoneno y 1,8 – cineol inhibieron a todos los microorganismos ensayados. El timol fue el que presentó mayor halo de inhibición y CMI más elevada.

Además en el estudio de Kurita y Koike (1983), el mentol a concentraciones de 0.5 mM y 1.0 mM combinado con etanol (3 %) y NaCl (3 %), causó varios días de inhibición en el crecimiento de siete hongos filamentosos. Estos fueron *Aspergillus oryzae* (2 días con 0.5 mm, 3 días con 1.0 mm, respectivamente), *Aspergillus niger* (3 días, 5 días), *Penicillium citrinum* (3 días, 6 días), *Penicillium viridicatum* (7 días, 11 días), *Fusarium graminearum* (3 días, 5 días), *Aureobasidium pullulans* (11 días, >20 días), y *Paecilomyces lilacinus* (6 días, 9 días).

El estudio de Trobetta y colaboradores (2005) prueba el efecto antimicrobiano de algunos terpenos; como es el caso del acetato de linalol, mentol y timol, en contra de *S. aureus* y de *E. coli*. Los resultados indican que el efecto antimicrobiano del mentol, timol y acetato de linalol se debe a la perturbación de la fracción lipídica de la membrana de los microorganismos, como resultado se altera la permeabilidad y causa la expulsión de

los organelos. A parte de la lipofiliidad y solubilidad de los terpenos, este efecto es dependiente de la composición lipídica y de la carga neta de la membrana microbiana. También los terpenos cruzan la membrana, penetrando al interior de la célula microbiana e interactuando con los sitios intracelulares importantes para la actividad antimicrobiana.

Por lo anterior, la actividad antimicrobiana del mentol parece estar relacionada a la desorganización de la membrana citoplasmática de los microorganismos patógenos impidiéndoles desarrollarse y proliferar, y a que el mentol actúa a nivel celular con el  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico, esto provoca una liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, por lo que se bloquea el canal; ocasionando que el pH se eleve y con ello los microorganismos no pueden sobrevivir al ambiente alcalino (Patel et. al., 2007). Su actividad antimicrobiana se desarrolla a concentraciones de partes por millón, de esta manera inhibe al *Staphylococcus aureus* a 32 ppm, *E. coli* y *C. albicans* a 500 ppm (Del Pilar y Rincón, 2007).

### 3.2 Propiedades antimicrobianas de la mentona

La mentona es un inhibidor de la síntesis de enzimas esenciales de la membrana celular, cuenta con la actividad fungicida-fungistática (Cano, 2007). Mediante el método de difusión en agar, se determinó la actividad antimicótica, frente a las cepas de *C. albicans* y por el método de dilución en tubo, la inhibición del crecimiento fúngico de *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagophytus*, *Microsporum canis* (Oyededeji et. al., 2006).

En los estudios que se han realizado a la mentona siempre se le ha utilizado en combinación con otros monoterpenos presentes en distintos aceites esenciales. Éste es el caso del estudio realizado por Cano (2007) en donde se demostró la actividad antimicótica *in vitro* y la elucidación de la estructura de algunos de los metabolitos del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) proveniente del distrito de Huacrapuquio (2700 m.s.n.m), Provincia de Tarma, Perú. El aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* se ha obtenido por el método de destilación por arrastre de

vapor de agua. Éste fue sometido a análisis físico-químico y determinación de la composición química mediante cromatografía de gases (CG), determinándose los siguientes monoterpenos: pulegona, limoneno, mentona y mirceno, como responsables de la actividad fungicida-fungistática. Mediante el método de difusión en agar, se determinó la actividad antimicótica, frente a las cepas de: *C. albicans* y por el método de dilución en tubo la inhibición del crecimiento fúngico de: *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagophytus*, *Microsporun canis*. Los diámetros de la prueba de difusión en agar de *Candida albicans*, fueron de: 30 mm al 100 % del aceite esencial de muña y 35 mm al 50% del aceite esencial y los dermatofitos (*Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagophytus*, *Microsporun canis*.), su crecimiento fue inhibido por el aceite esencial.

En el estudio realizado por Oyedeji y Afolayan (2006) se estudió el aceite esencial obtenido de la *Mentha longifolia* de Sudáfrica; el cual fue analizado a través de cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Se identificaron un total de 31 compuestos en el 99.7% de la composición del aceite. Los principales componentes del aceite son mentona (50.9%), pulegona (19.3%) y 1,8 – cineol (11.9%). El aceite se probó contra bacterias gram positivas y gram negativas y se encontró que fue muy activo en un rango de 0.039 a 0.078 µg/mL contra *Bacillus subtilis*, *Micrococcus kristinae*, *S. aureus* y *S. epidermis*.

El estudio de Woo y colaboradores (2008) analizó a las enzimas encargadas de sintetizar los metabolitos secundarios especializados en defender a la planta de microorganismos patógenos. Se logró aislar de la planta del chile (*Capsicum annum*) el gen CaMNR1 [mentona:(1)-(3S)-neomentol reductasa] responsable de la protección; este gen forma parte de la superfamilia de deshidrogenasas / reductasas. A través de cromatografía de gases se demostró que tanto CaMNR1 como su análogo AtSDR1 de la *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) catalizan la reducción de la mentona a neomentol con ayuda del dinucleótido adenin nicotinamida fosfatasa como cofactor; el neomentol es el que presenta la actividad antimicrobiana en las plantas. Además el CaMNR1 y AtSDR1 poseen la actividad catalítica para la oxidación del neomentol. Se examinó la

función celular del gen CaMNR1 a través de la sobreexpresión ectópica del gen con ayuda de un virus inducido en las plantas de Chile y *Arabidopsis*, respectivamente. La planta de Chile fue más susceptible a *Xanthomonas campestris pv vesicatoria* y a *Colletotrichum coccodes* aún con la presencia del gen CaMNR1 en ella, por ello hubo la expresión en menor proporción de los genes CaBPR1, CaPR10 y CaDEF1; responsables de la producción de ácido salicílico y de ácido jasmónico. Mientras que en la planta de *Arabidopsis* se sobre expresó el gen CaMNR1, ya que mostró resistencia a *Pseudomonas syringae pv tomato DC3000* y a *Hyaloperonospora parasitica isolate Noco2*, este gen estuvo acompañado de la producción de los genes AtPR1 y AtPDF1.2. En contraste, si se presenta una mutación significativa en el gen CaMNR1 y en su análogo AtSDR1 ambas plantas se vuelven susceptibles a los microorganismos patógenos. Por lo tanto, los resultados indicaron que el gen de la mentona reductasa CaMNR1 y su análogo AtSDR1, posiblemente regulen las defensas de las plantas en contra de un gran número de microorganismos patógenos.

### 3.3 Propiedades antimicrobianas de los derivados del mentol y de la mentona

Existen pocos estudios enfocados a comprender el mecanismo involucrado en la inhibición microbiana por derivados del mentol y mentona. Sin embargo, se supone que si la estructura de los derivados es similar a la de los terpenos base con la actividad antimicrobiana comprobada, el mecanismo de acción de los derivados debe ser similar. No existen modelos definidos para predecir los efectos de los agentes antimicrobianos naturales cuando son usados con alguna modificación química a su estructura básica. Esto se origina a través de reacciones químicas, tales como la hidroxilación, metilación, epoxidación, malonilación, esterificación y la glucosilación. Además de que la actividad antimicrobiana de los antimicrobianos naturales puede variar dependiendo del tipo de microorganismo patógeno presente (Marcen, 2000).

Cuando se le realiza una modificación a la estructura original a la molécula del agente antimicrobiano pueden ocurrir tres situaciones: sinergismo, antagonismo o efectos aditivos. El sinergismo se refiere al mejoramiento de la actividad antimicrobiana de un compuesto al agregarle o sustituir un grupo funcional. El antagonismo ocurre

cuando la actividad de un antimicrobiano se reduce en la presencia de un segundo grupo funcional. Y el efecto aditivo ocurre cuando la efectividad de un antimicrobiano no se reduce ni tampoco mejora en la presencia de un segundo grupo funcional (Marcen, 2000).

Modificaciones a los antimicrobianos comunes se han usado frecuentemente en la industria, sin embargo las interacciones entre ellos no se han comprendido en su totalidad. Esta falta de información es aún mayor cuando se trata de antimicrobianos naturales. La evaluación de la modificación de agentes antimicrobianos es necesaria debido a que un microorganismo puede ser resistente a la inhibición y/o eliminación por dosis convencionales de un antimicrobiano común, pero al ser expuesto a una modificación química se puede aumentar la actividad antimicrobiana de estos agentes. En modificaciones a los agentes antimicrobianos, es de suma importancia considerar la concentración y la relación que guardan entre ellos (Woo et. al., 2008).

En el caso del acetato de mentilo el cual es el derivado acetilado del mentol y un monoterpeno saturado, con una fórmula condensada  $C_{12}H_{22}O_2$ , es utilizado ampliamente como analéptico y antineurálgico (Gildemeister, 1993). Los estudios que se han hecho en relación a él únicamente se enfocan en su cuantificación empleando la técnica de cromatografía de gases con detector FID y a su identificación a través de cromatografía en capa fina (FEUM, 2008).

Mientras que la oxima de la mentona,  $C_9H_{17}CN$ , es ampliamente utilizada en perfumes; como fijador de la fragancia y en los alimentos como saborizante (Zhukouskaya, 2006).

Hay reportes que indican que los derivados de mentol y mentona presentan actividad antimicrobiana, es difícil obtener estimaciones cuantitativas y hacer comparaciones de sus efectos debido a que han sido poco estudiados por ese campo. Además de que existen una gran variedad de métodos para evaluar su efectividad.



En el estudio de Rashad El-Zemity y colaboradores (2008), se evaluaron trece aceites esenciales de caraway, chenopodium, canela, clavo, eucalipto, ajo, geranio, limón, matrecary, menta, rosa, rosemary y tomillo y de igual forma se evaluaron catorce monoterpenos: borneol, alcanfor, carvacrol, carveol, carvone (R y S), clorotimol, cineol, cinnamaldehído, citronelol, eugenol, geraneol, mentol y timol con el propósito de investigar su actividad antimicrobiana en contra de dos bacterias fitopatogénicas, *Agrobacterium tumefaciens* y *Erwinia carotovora var carotovora*. Se realizaron varios intentos para mejorar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales a través de la modificación estructural y utilizando mezclas con: butóxido de piperonilo, triton X – 100 y tween 20. Además se probaron los derivados del N–metil carbamato. Los aceites esenciales de canela, clavo, chenopodium, caraway, rosemary y tomillo probaron tener buena actividad antimicrobiana. El timol, clorotimol y carvacrol mostraron ser tan potentes como los estándares. El carbamato de mentol superó al mentol al tener mejor actividad bactericida a todas las concentraciones. Además, la actividad bactericida de los derivados de carbamato del  $\beta$ –citronelol y borneol mejoró en contra de *Erwinia carotovora*, pero disminuyó en contra de *Agrobacterium tumefaciens*. La actividad antibacterial sinérgica probada en los monoterpenos, se observó cuando se hicieron combinaciones de cada uno con los tres sinérgicos, en particular con triton X – 100.

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente, en la literatura no se cuenta con informes sobre la evaluación de la actividad antimicrobiana los derivados de mentol y mentona. Únicamente existen datos de los usos: aromatizante, antiséptico, bactericida, fungicida, antipruriginoso, analgésico, espasmolítico, colagogo, carminativo, antitusivo, mucolítico, expectorante, descongestivo nasofaríngeo e hipocolesterolemiante (Duke, 2007; WHO, 2002) y de la actividad antimicrobiana del mentol y de la mentona, pero aún quedan por estudiar varios aspectos de su actividad, tal es el caso de su uso como “profármacos”, y la evaluación de su potencia antimicrobiana. Por lo que se pretende obtener y evaluar el perfil antimicrobiano, del acetato de mentilo y de los derivados: mentona oxima, mentona fenilhidrazona y de la bencilimina de la mentona; frente a determinados microorganismos. La selección de los grupos funcionales se debe a que éstos se encuentran asociados a diversos fármacos con actividades como: antiamebiana y antiviral (Abid, 2005).

Por lo anterior, en este trabajo se pretende sustentar que los derivados de mentol y mentona como: el acetato de mentilo, mentona oxima, mentona fenilhidrazona y bencilimina de la mentona; al mantener la misma estructura molecular monoterpénica pueden actuar como profármacos, es decir, que podrían ser hidrolizados (*in situ*) a mentona o bien a mentol; bajo la premisa de que funcionarán como sustrato de las bacterias. El grado en el cual se presente este proceso químico se manifestará en la respuesta biológica.

#### 5. HIPÓTESIS

Los derivados de mentol y mentona con grupos funcionales de naturaleza reversible, introducidos en el sistema terpénico, presentarán una actividad antimicrobiana modificada debido a que en su estructura conservan características asociadas al farmacóforo base, como son el esqueleto monoterpénico y los grupos hidroxilo del mentol y carbonilo de la mentona, estos últimos, enmascarados.

## 6. OBJETIVO GENERAL

- Obtener los derivados del mentol y de la mentona para evaluar su acción *in vitro* como profármacos en cinco especies de bacterias patógenas y una levadura.

## 7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar, purificar y caracterizar al acetato de mentilo, a la mentona oxima, a la mentona tiosemicarbazona, a la mentona fenilhidrazona, a la imina de la mentona, a la ciclohexilimina de la mentona y de la bencilimina de la mentona a través de métodos espectroscópicos convencionales: infrarrojo y RMN.
- Obtener la concentración mínima Inhibitoria de los derivados de mentol y mentona utilizando *Escherichia coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella entérica serotipo Typhimurium*, *Candida albicans*.
- Evaluar la toxicidad aguda para en su caso, obtener la dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) de los derivados de mentol y mentona.

## 8. MATERIALES Y MÉTODOS

**Reactivos:** mentol, mentona, piridina, anhídrido acético, clorofomo, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, sulfato de sodio anhidro, dicromato de potasio, ácido sulfúrico, éter, clorhidrato de hidroxilamina, acetato de sodio anhidro, etanol absoluto, tiosemicarbazida, clorhidrato de fenilhidrazina, acetato de etilo, hidróxido de potasio, nitrógeno, n-hexano, cloruro de metileno, gel de sílice, bromohidrato de imidazo[1,2-a]piridina-2-carboxilato de etilo, ácido nítrico, tetrahidrofurano, ditionito de sodio, 2-aminoimidazo[1,2-a]piridina, ciclopentilamina, ciclohexilamina, bencilamina, glicerina, isopropanol, DMSO, PVP y agua destilada.

**Microorganismos de prueba:** *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43895), *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) y *Candida albicans* (ATCC 10251).

**Medios de cultivo:** caldo infusión cerebro corazón, agar de Mac Conkey, agar de Müeller-Hinton, agar dextrosa Saboraud y caldo dextrosa Saboraud todo marca Bioxon.

**Material microbiológico:** sensidiscos en blanco, sensidiscos de cloranfenicol 30 µg marca Oxoid y un pliego de papel filtro.

**Material biológico:** 24 ratones machos cepa CD-1 (25-30 g).

**Equipos:** aparato de fusión marca Fisher Johns, espectrofotómetro infrarrojo (FTIR) modelo Spectrum BX marca Perkin Elmer, espectrómetro de resonancia magnética nuclear Varian Mod Mercury 400, horno de microondas químico MIC-I SEV®, horno de microondas de 1300W, espectrofotómetro UV-visible Beckman modelo DU® 650, estufa de cultivo a 35°C y autoclave.

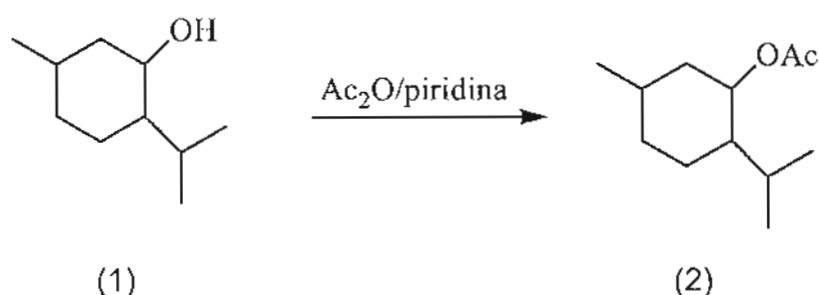
## 9. PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato de Fisher Johns y no están corregidos. Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se realizaron a 400 y 100 MHz respectivamente, usando el espectrómetro de RMN Varian Mod Mercury 400. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se dan en partes por millón (ppm) usando como referencia interna al tetrametil silicio ( $\delta = 0$ ). Los espectros de infrarrojo se obtuvieron en un espectrofotómetro infrarrojo (FTIR) modelo Spectrum BX marca Perkin Elmer.

Las cromatografías en placa fina se realizaron sobre láminas de aluminio revestidas con gel de sílice MERCK 60 F 254; los compuestos eluidos en la placa se revelaron con luz ultravioleta de onda larga y yodo. La purificación de los compuestos se realizó por cromatografía en columna usando como soporte gel de sílice (MERCK 60, 70 – 230 mesh).

### 9.1 Sección química

#### 9.1.1 Preparación del acetato de mentilo.



En un matraz balón se disolvieron 10 g de mentol (1) (64.1 mmol) en 50 mL de piridina y a continuación se agregaron 60 mL de anhídrido acético (60 mmol). La mezcla se calentó (80 °C), durante 3 horas. La mezcla de reacción se permitió enfriar a temperatura ambiente y se le adicionó hielo picado (50 g). Se procedió a extraer con cloroformo (3 x 40 mL) y la fase orgánica se lavó con 20 mL de HCl al 10%, después con 20 mL de NaOH al 5% y enseguida con agua (1 x 10 mL); la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente hasta que se obtuvo un líquido amarillo pálido con olor fresco afrutado, 9.87 g (77.7%) (Navarrete, 1991).

Densidad reportada: 0.924 – 0.928 g/mL

Densidad experimental: 0.924 g/mL

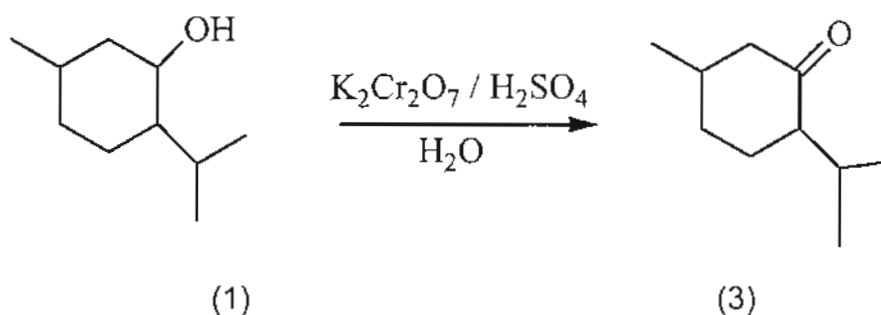
Solubilidad: etanol, hexano, cloroformo y acetato de etilo

IR (KBr  $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  2949.58, 2920, 2866.44 (C-H); 1730.39 (C=O); 1231.81, 1021.53 (C-O).

RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 4.60 (td,  $J$  = 10.8, 4.4 Hz, 1H, CH-O); 1.96 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$ ); 1.79 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 1.60 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-CH-O}$ ); 1.41 (m, 1H,  $\text{CH-CH}_3$ ); 1.29 (m, 1H, CH); 0.88 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{CH}_2$ ); 0.69 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 169.25 (C=O); 72.9 (C-O).

### 9.1.2 Preparación de la mentona



En un matraz balón de tres bocas, se agregaron 10.4 g de dicromato de potasio (97.2 mmol), 40 mL de agua y 6 mL de ácido sulfúrico concentrado. A continuación se adicionaron 10 g de mentol (1) (64.1 mmol) y 65 mL de éter. La mezcla de reacción se calentó a 25 °C, durante 2 horas. La mezcla de reacción se permitió enfriar a temperatura ambiente y se trasvaso a un embudo de separación donde se dejó reposar por 10 min. La fase etérea se separó y la fase acuosa se lavó con éter (2 x 18 mL). Los lavados se juntaron y a continuación se lavaron con 30 mL de una solución de NaOH al 5%, la fase orgánica se secó con sulfato de magnesio y el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener un aceite incoloro, 9.65 g (97.8%) (Sandborn, 1941).

Densidad: 0.881 – 0.941 g/mL

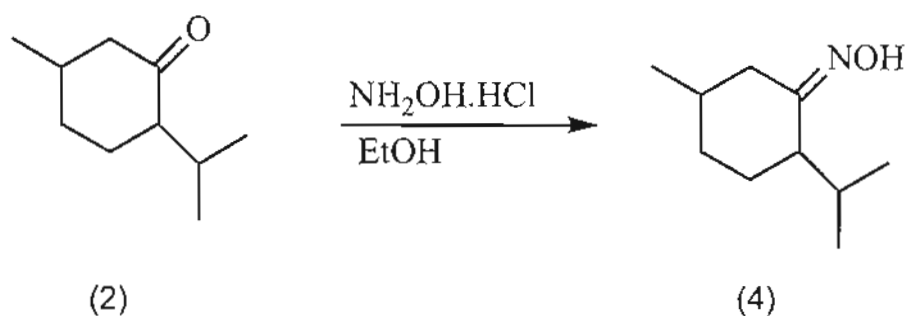
Solubilidad: etanol, hexano, cloroformo y acetato de etilo

IR (KBr  $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  2921.91, 2866.99 (C-H); 1703.60 (C=O).

RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 2.20 (m, 1H, CH); 2.16 (d, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 2.05 (m, 1H, CH); 1.95 (m, 1H, CH); 1.78 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 1.06 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1.0 (d, 6H,  $\text{CH}_3$ ).

RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 214.15, 211.91 (s, C-2); 77.12, 76.49 (s, C-5).

### 9.1.3 Preparación de la mentona oxima



En un matraz balón, se agregaron 10 g de mentona (3) (64.9 mmol), 18 g de clorhidrato de hidroxilamina (260.9 mmol) y 21.2 g de acetato de sodio anhidro (258.4 mmol) en 300 mL de etanol absoluto. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de ebullición durante 1 hora. Al término de lo cual se permitió enfriar y se adicionó hielo. Al eliminar el disolvente a presión reducida empieza la formación del precipitado, el cual se separa por filtración. A los cristales obtenidos se les determinó el punto de fusión y el rendimiento (Fisher, 2007).

Rendimiento: 9.94 g (91.13%)

Punto de fusión reportado: 59 – 60°C

Punto de fusión experimental: 60°C

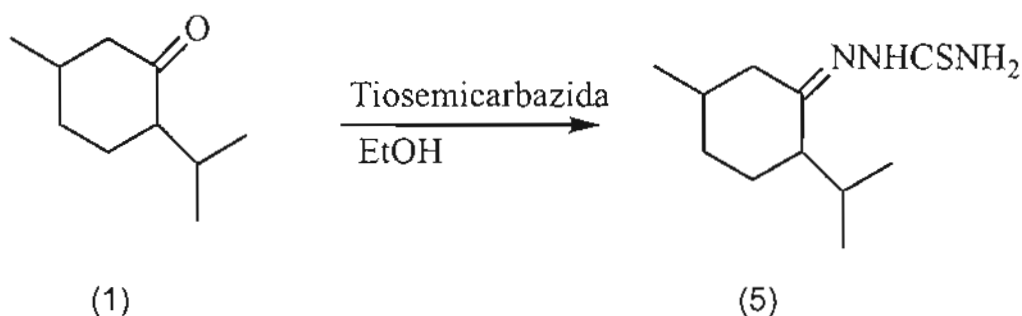
Solubilidad: etanol

IR ( $\text{KBr cm}^{-1}$ )  $\nu$  3307.76 (O-H); 3016.06, 2953.69, 2924.98, 2868.98 (C-H); 1212.90 (C-N).

RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 8.74 (señal ancha, 1H, OH); 3.03 (m, 1H, CH); 2.13 (m, 1H, CH); 1.86 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 1.15 (m, 1H, CH); 0.98 (d,  $J$  = 6 Hz, 3H,  $-\text{CH}_3$ ); 0.92 (dd,  $J$  = 8.4, 6.4 Hz, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ).

RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 161.17 (C-N).

#### 9.1.4 Preparación de mentona tiosemicarbazona



En un matraz balón, se agregaron 10 g de mentona (3) (64.9 mmol), 23.6 g de tiosemicarbazida (258.9 mmol) y 21.2 g de acetato de sodio anhidro (258.4 mmol) en 300 mL de etanol absoluto. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de ebullición durante 1 hora. Siguiendo el procedimiento anteriormente descrito se obtuvo el producto del título en forma de cristales de color blanco brillante. Los cristales se filtraron, se les tomó el punto de fusión y se determinó el rendimiento (Gildemeister, 1913).

Rendimiento: 0.025 g (1.67%)

Punto de fusión reportado: 155 – 157°C

Punto de fusión experimental: 156°C

Solubilidad: etanol

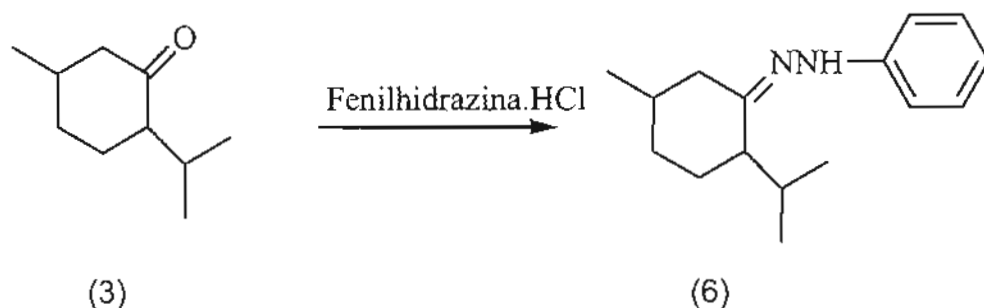
IR (KBr  $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3016.47, 2951.50, 2922.66, 2851.72 (N-H); 2417.82, 2397.75, 2365.91, 2343.80 (C=N); 1732.52, 1718.11 (S=C-NH<sub>2</sub>); 1212.68 (S=C-NH<sub>2</sub>).

RMN-<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, ppm)  $\delta$  = 7.51, 7.36, 6.99 (s, 3H, NH<sub>2</sub>, NH), 2.17 (s, 1H, CH), 2.04 (s, 1H, CH), 2.01 (s, 1H, CH), 1.57 (m, 5H, CH<sub>2</sub>, CH), 1.24 (m, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.85 (m, 6H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).



### 9.1.5 Preparación de mentona fenilhidrazona

Para obtener este derivado se propusieron cuatro técnicas de síntesis, las cuales se realizaron en función del éxito en la obtención y/o rendimiento del producto.



#### 9.1.5.1 Primera técnica de síntesis

En un matraz balón, se agregaron 10 g de mentona (3) (64.9 mmol), 37.5 g de clorhidrato de fenilhidrazina (259.3 mmol) en 300 mL de ácido acético. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de ebullición durante 3 horas, al finalizar este periodo se adicionaron 150 mL de una solución concentrada de NaOH, por último se procedió a extraer con acetato de etilo (4 x 40 mL), la fase orgánica se seco con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente hasta que se obtuvo un aceite de color café y el producto crudo se purificó por cromatografía en columna usando como fase móvil hexano: acetato de etilo (95:5).

#### 9.1.5.2 Segunda técnica de síntesis

En un matraz balón, se agregaron 5 g de clorhidrato de fenilhidrazina (34.6 mmol), 0.3 g de hidróxido de potasio (5.4 mmol) en 15 mL de etanol absoluto. La mezcla de reacción se agitó hasta la total disolución de la fenilhidrazina a temperatura ambiente, por último se procedió a extraer con cloruro de metileno (3 x 15 mL), la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente hasta que se obtuvo un líquido oleoso colorido. Posteriormente se agregaron 5 g de mentona (3) (32.5 mmol) y 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado, la mezcla se mantuvo en

agitación por 12 horas a temperatura ambiente. Se hizo el seguimiento de la reacción a través de cromatografía en capa fina.

#### 9.1.5.3 Tercera técnica de síntesis

En un matraz balón, se agregaron 5 g de clorhidrato de fenilhidrazina (34.6 mmol), 2.59 g de hidróxido de potasio (46.2 mmol) disuelto en 20 mL de agua y 20 mL de etanol absoluto. La mezcla de reacción se agitó hasta la total disolución de la fenilhidrazina a temperatura ambiente, y se procedió a extraer con cloruro de metileno (3 x 15 mL), la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente hasta que se obtuvo un líquido oleoso colorido. Posteriormente se agregaron 5 g de mentona (3) (32.5 mmol), 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado y 20 mL de etanol absoluto, se mantuvo en agitación la mezcla por 12 horas a temperatura ambiente. Se hizo el seguimiento de la reacción a través de cromatografía en capa fina. Al término de la reacción se procedió a extraer con cloruro de metileno (5 x 30 mL) y la fase orgánica se lavó con una solución saturada de bicarbonato de sodio; la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente hasta que se obtuvo un aceite de color café. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna usando como fase móvil hexano (100%).

#### 9.1.5.4 Cuarta técnica de síntesis

La liberación de la fenilhidrazina se realizó en un matraz balón, se agregaron 5 g de clorhidrato de fenilhidrazina (34.6 mmol), 2.59 g de hidróxido de potasio (46.2 mmol) disuelto en 20 mL de agua y 20 mL de etanol absoluto. Se evaporó el disolvente y se procedió a extraer con cloroformo (5 x 50 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó el disolvente a presión reducida hasta obtener un líquido oleoso. Posteriormente se agregaron 5g de mentona (3) (32.5 mmol) y la mezcla de reacción se introdujo al microondas bajo atmósfera de nitrógeno, a una potencia de 80 y con un tiempo total de 3 min 30 s. El seguimiento de la reacción se hizo minuto a minuto empleando cromatografía en placa fina. Al término de la reacción se procedió a lavar la mezcla de reacción con hexano (2 x 2 mL) para eliminar el exceso de mentona que quedó sin reaccionar y los lavados se desecharon. Después se agregaron 30 mL

de cloruro de metileno y 30 g de sílica gel al crudo de reacción y la mezcla se dejó en agitación por 12 horas. Al día siguiente la mezcla se filtró y la sílice se lavó con cloruro de metileno (2 x 10 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida hasta obtener el producto del título en forma de un aceite de color café oscuro, 3.5 g (63.6%)

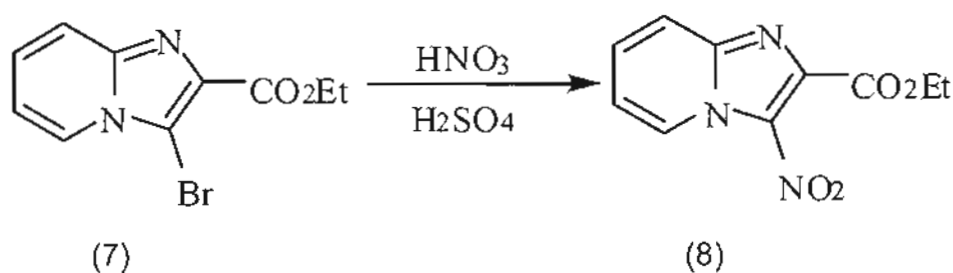
Solubilidad: Etanol, cloruro de metileno, acetona y hexano

IR (KBr  $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3015.66 (C-H), 2955.25, 2924.99 (N-H); 1683.14 (C-N); 1580.26 (C-C); 1385.16, 1367.96 (C=C); 1212.86 (N-H); 752.77 (N-H); 731.83 (monosustitución en el anillo aromático).

RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 7.56 (m, 1H, Ar); 7.3 (m, 3H, Ar); 7.14 (m, 1H, Ar); 2.81 (m, 1H, CH); 2.56 (m, 1H, CH); 2.34 (m, 1H, CH); 2.13 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.58 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.23 (dd,  $J$  = 6.8, 2.4 Hz, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 1.13 (d,  $J$  = 6 Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1.02 (m, 1H, CH); 0.85 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ).

RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 155.25, 142.43 (C-N).

#### 9.1.6 Preparación de 3-nitroimidazo[1,2-a]piridina-2-carboxilato de etilo



En un matraz Erlenmeyer de 125 mL provisto con una barra magnética de agitación, se colocaron 4 g (14.76 mmol) de bromohidrato de imidazo[1,2-a]piridina-2-carboxilato de etilo (7). El matraz que contenía a la materia prima se enfrió por medio de un baño de hielo – sal ( $-5$  a  $0^\circ\text{C}$ ) y se adicionaron 28 mL de ácido sulfúrico concentrado. Una vez disuelto el sólido, se adicionaron lentamente 3.4 mL (49.7 mmol) de ácido nítrico concentrado, manteniendo la temperatura entre  $-5$  y  $0^\circ\text{C}$ . La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos en el baño de hielo – sal y una hora a temperatura ambiente; al término de este tiempo se vertió en un vaso de precipitados que contenía 200 g de hielo, inmediatamente se formó un precipitado de color amarillo, el cual se separó por

filtración y se lavó con agua (2 x 30 mL). La recristalización de etanol permitió la obtención del producto en forma de agujas, 5 g (95%).

Punto de fusión reportado: 104 – 106°C

Punto de fusión experimental: 105°C

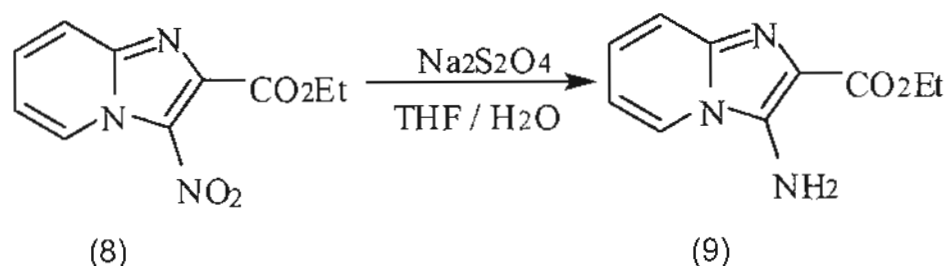
Solubilidad: etanol, acetato de etilo y cloruro de metileno

IR (KBr  $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  1736 (C=O); 1483, 1242 ( $\text{NO}_2$ ); 1215 (C-O).

RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , ppm)  $\delta$  = 9.27 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 1H, H-5); 7.97 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 1H, H-8); 7.85 (dd,  $J$  = 9.0, 6.6 Hz, 1H, H-7); 7.53 (dd,  $J$  = 6.9, 6.6 Hz, 1H, H-6); 4.42 (c,  $J$  = 7.2 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.31 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ , ppm)  $\delta$  = 162.69; 145.12; 140.46; 132.8; 128.60; 118.94; 118.75; 62.85; 14.31.

### 9.1.7 Preparación de 3-aminoimidazo[1,2-a]piridina-2-carboxilato de etilo



En un matraz balón se colocó un equivalente molar de 3-nitroimidazo[1,2-a]piridina-2-carboxilato de etilo (8), al cual se le adicionó una mezcla de THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1) y la disolución se calentó entre 60 – 70°C. Entonces se le adicionó a la mezcla de reacción un equivalente molar de ditionito de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) cada media hora hasta la desaparición completa de la materia prima detectada por medio de cromatografía en capa fina. En total se hicieron cinco adiciones de ditionito de sodio. Se eliminó el THF por medio de presión reducida, se adicionó acetato de etilo, se separó la fase acuosa y la orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro. El disolvente se eliminó por medio de presión reducida hasta sequedad.

Rendimiento: 3 g (66.94%)

Punto de fusión reportado: 105 – 107°C

Punto de fusión experimental: 106°C

Solubilidad: THF y acetato de etilo

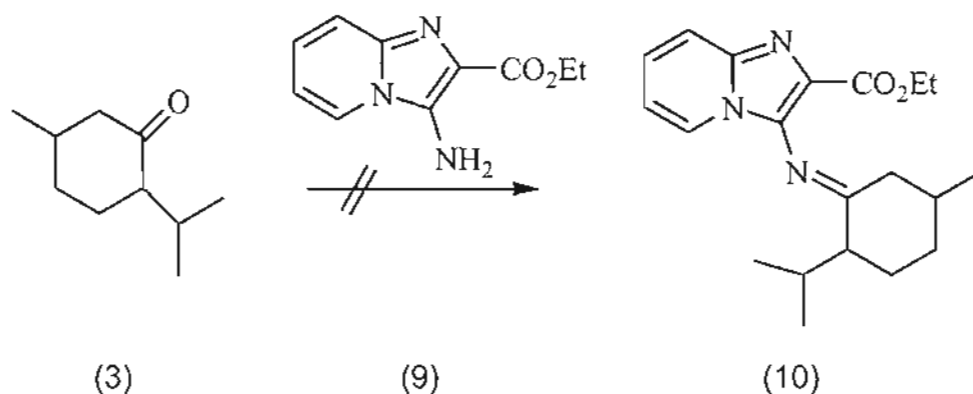
IR (KBr  $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3390, 3179 ( $\text{NH}_2$ ); 1640 ( $\text{C}=\text{O}$ ); 1215 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 790 ( $\text{N}-\text{H}$ ).

RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 7.69 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H, H-5); 7.50 (d,  $J$  = 9.6, 1H, H-8); 7.08 (ddd,  $J$  = 9.3, 6.7, 1.2 Hz, 1H, H-7); 6.78 (td,  $J$  = 6.6, 0.8 Hz, 1H, H-6); 4.94 (señal ancha, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 4.45 (c,  $J$  = 6.8 Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.45 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).

RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 165.03; 138.87; 135.89; 123.92; 120.97; 119.01; 112.33.

### 9.1.8 Técnicas empleadas para la condensación de la mentona con la amina derivada de imidazopirridina

Para obtener este derivado se propusieron cuatro técnicas de síntesis, las cuales se realizaron en función del éxito en la obtención y/o rendimiento del producto.



#### 9.1.8.1 Primera técnica de síntesis

En un matraz balón se colocaron 0.5 g de 3-aminoimidazo[1,2-a]piridina-2-carboxilato de etilo (9) (2.5 mmol) y 0.4 g de mentona (3) (2.6 mmol) en 25 mL de ácido acético. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de ebullición durante 12 horas. Se hizo el seguimiento de la reacción con cromatografía en placa fina. Al término de la reacción se le permitió a la mezcla de reacción enfriarse a temperatura ambiente y se procedió a lavar la mezcla con 15 mL de una solución de NaOH al 10%. Posteriormente se procedió a extraer con acetato de etilo (2 x 30 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró, se evaporó el disolvente y se determinó el rendimiento.

#### 9.1.8.2 Segunda técnica de síntesis

En un matraz balón se colocaron 0.5 g de 3-aminoimidazo [1,2-a]piridina-2 – carboxilato de etilo (9) (2.5 mmol), 0.8 g de mentona (3) (5.2 mmol) y 0.3 mL de ácido sulfúrico concentrado en 20 mL de tolueno. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de ebullición durante 12 horas. Se hizo el seguimiento de la reacción con cromatografía en placa fina. Al término de la reacción se le permitió a la mezcla de reacción enfriarse a temperatura ambiente y se procedió a lavar la mezcla con una solución de bicarbonato de sodio al 5%. Posteriormente se procedió a extraer con tolueno (5 x 10 mL). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se le evaporó el disolvente y el producto crudo se purificó por cromatografía en columna usando como fase móvil hexano: acetato de etilo (85:15).

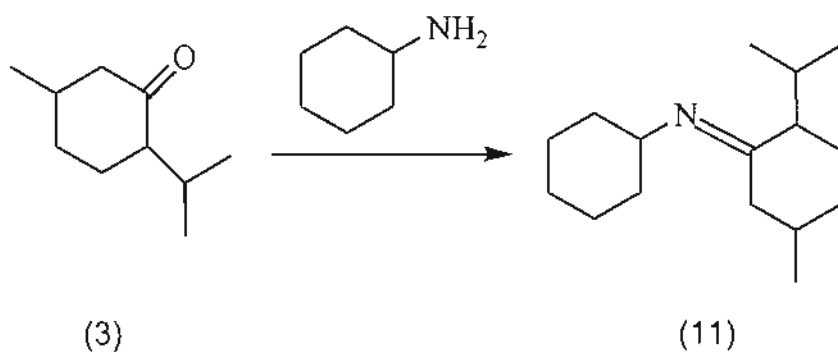
#### 9.1.8.3 Tercera técnica de síntesis

En un matraz balón se colocaron 0.2 g de 3-aminoimidazo[1,2-a]piridina-2 – carboxilato de etilo (9) (0.98 mmol) y 0.152 g de mentona (3) (0.98 mmol); la mezcla de reacción se introdujo al microondas con atmósfera de nitrógeno, a una potencia de 80 y con un tiempo total de 2 min 10 s. Se hizo el seguimiento de la reacción minuto a minuto con cromatografía en placa fina. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna usando como fase móvil hexano: acetato de etilo (95:5).

#### 9.1.8.4 Cuarta técnica de síntesis

En un tubo para presión se colocaron 0.4 g de 3-aminoimidazo[1,2-a]piridina-2 – carboxilato de etilo (9) (2.6 mmol) y 0.5 g de mentona (3) (2.5 mmol); la mezcla de reacción se introdujo al microondas químico MIC - I con una agitación de 700 rpm y a 90°C. La reacción se monitoreó cada 15 minutos con cromatografía en placa fina.

### 9.1.9 Preparación de la ciclohexilimina de la mentona



En un tubo para presión se colocaron 0.8 g de ciclopentilamina (8.1 mmol) y 0.5 g de mentona (3) (2.5 mmol); la mezcla de reacción se introdujo al microondas químico MIC - I con una agitación de 700 rpm y a 90°C. La reacción se monitoreó cada 15 minutos con cromatografía en placa fina. Al finalizar la reacción se obtuvieron cristales, a los cuales se les tomó el punto de fusión y se les determinó el rendimiento.

Rendimiento: 0.1 g (13.16%)

Punto de fusión experimental: 35 – 39°C

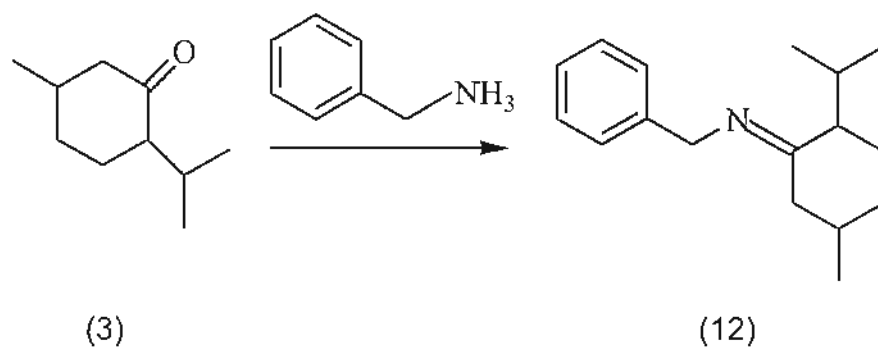
Solubilidad: etanol, hexano y acetato de etilo

IR (KBr  $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  1750 (C-N), 1660, 1600 (N-H), 650 (N-H).

RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 2.65 (m, 1H, CHNH); 2.32 (m, 3H, CH,  $\text{CH}_2$ ); 2.13 (m, 1H, CH); 1.78 (m, 15H, CH,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ); 0.93 (m, 9H,  $\text{CH}_3$ ).

RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 212.50 (C-N).

### 9.1.10 Preparación de la bencilimina de la mentona



En un tubo para presión, se colocaron 0.72 g de bencilamina (6.7 mmol) y 0.5 g de mentona (3) (2.5 mmol); la mezcla de reacción se introdujo al microondas químico MIC-I con una agitación de 700rpm y a 90°C. La reacción se monitoreo cada 15 minutos con cromatografía en placa fina. Al finalizar la reacción se obtuvieron cristales, a los cuales se les tomó el punto de fusión y se les determinó el rendimiento.

Rendimiento: 0.75 g (93.75%)

Punto de fusión experimental: 45 – 50°C

Solubilidad: etanol, hexano y acetato de etilo

IR (KBr  $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  1657 (C=N); 1600 (C-N), 1490(N-H), 763 (monosustitución en el anillo aromático).

RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 7.29 (m, 5H, Ar); 3.87 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{Ar}$ ); 2.32 (m, 1H, CH); 1.90 (m, 5H, CH,  $\text{CH}_2$ ); 1.58 (m, 1H, CH); 1.31 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 0.93 (m, 9H,  $\text{CH}_3$ ).

RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , ppm)  $\delta$  = 212.09 (C-N).

## 9.2 Sección farmacológica

Para realizar la evaluación de la respuesta antimicrobiana fue necesario establecer las condiciones de prueba y uno de los parámetros de partida fue la solubilidad, para ello se ensayó con diferentes disolventes como se describe a continuación.

### 9.2.1 Pruebas de solubilidad de los derivados de mentol y mentona

Haciendo uso de un panel de prueba bajo un diseño factorial 3 x 6, se efectuaron las pruebas de solubilidad de los derivados sintetizados en los disolventes (glicerina, etanol, isopropanol, DMSO y PVP/EtOH/hexano), a temperatura ambiente estableciendo el volumen requerido para lograr una solución que resulte miscible con el agua, ya que es el vehículo del medio de cultivo.

En una serie de tubos de ensayo se colocaron 500  $\mu\text{L}$  o 100 mg de cada compuesto a ensayar adicionando 500  $\mu\text{L}$  de cada disolvente a cada tubo, se agitó y se observó.



Posteriormente se agregaron 500  $\mu\text{L}$  de agua destilada, se agitó y se observó la miscibilidad entre ellos.

### 9.2.2 Preparación de las soluciones patrón.

De los disolventes probados la mezcla que mejor funcionó fue la de PVP/EtOH/hexano; por lo cual se prepararon las soluciones patrón con esta mezcla y la de prueba.

En una serie de 6 microtubos se colocaron 500 mg de mentol y de mentona; o 600 mg de los compuestos sintetizados (acetato de mentilo, mentona oxima, mentona fenilhidrazona y bencilimina de la mentona) y 1 mL de *n*-hexano RA; para obtener una concentración de 500 o 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivamente. A partir de estos tubos se utilizaron 12 tubos más, en los cuales se prepararon las diferentes concentraciones a partir del primer tubo (600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), se obtuvieron las diluciones sucesivas tomando 0.5 mL de la solución stock de los derivados de mentol y mentona; y agregando 0.5 mL de hexano al siguiente tubo (300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Y así sucesivamente hasta el tubo 4 para cada uno de los derivados de mentol y mentona. De esta manera se realizaron las diluciones requeridas para obtener concentraciones de 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  hasta 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

### 9.2.3 Preparación de sensidiscos con los compuestos a evaluar

Como parte de la preparación del ensayo de la actividad *in vitro*, se impregnaron una serie de sensidiscos estériles con 10  $\mu\text{L}$  de los seis compuestos a sus diferentes concentraciones: mentol a 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , mentona a 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y acetato de mentilo, mentona oxima, mentona fenilhidrazona y bencilimina de la mentona a 600, 300, 150 y 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; cada una de las concentraciones se hizo por triplicado. Para ello se depositaron los sensidiscos sobre una placa de vidrio para impregnarlos con la ayuda de una pinza de disección.

#### 9.2.4 Técnica de difusión en agar para determinar la actividad antimicrobiana (Bauer, 1996).

El método empleado para determinar la sensibilidad de las cepas de inóculos frente al tratamiento con los compuestos sintetizados se siguió la técnica de difusión de agar, para lo cual se estandarizó previamente la densidad óptica del inóculo. Se utilizó el estándar 5 de McFarland o su equivalente óptico. Para obtener la densidad correcta del estándar de turbidez se verificó por espectrofotometría, a 540 nm considerando como referencia el estándar de turbidez de BaSO<sub>4</sub>, equivalente al tubo No. 5 de McFarland.

Tanto la cantidad de antibiótico como el número de bacterias (inóculo) deben controlarse cuidadosamente. La suspensión de gérmenes que habrá de utilizarse para la realización de la prueba deberá provenir de cultivos monomicrobianos. Por lo que para la preparación de los inóculos se utilizaron cepas puras de *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. dysenteriae*, *S. enterica serotipo Typhymurium*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*; se tomaron de 4 a 6 colonias bien aisladas con el mismo tipo de morfología. Las cuales se transfirieron a un tubo con 5 mL del medio de cultivo correspondiente (ver Tabla 1). Los inóculos se incubaron a 37°C hasta que alcanzaron la turbidez del estándar del tubo No. 5 de McFarland (2 - 6 horas).

La inoculación de las placas de las cepas de referencia seleccionadas se realizó empleando el medio de cultivo correspondiente a cada especie (ver Tabla 1). Se tomó 0.1mL del inóculo y se dispersó sobre la superficie del agar con la ayuda de un triángulo. Posteriormente se colocaron sobre la superficie de la placa los sensidiscos impregnados con los compuestos a sus respectivas concentraciones: mentol a 500 µg/mL, mentona a 500 µg/mL y acetato de mentilo, mentona oxima, mentona fenilhidrazona y bencilimina de la mentona a 600, 300, 150 y 75 µg/mL; incluyendo el control positivo (cloranfenicol) y el negativo (hexano), con la ayuda de unas pinzas estériles apretándolos suavemente sobre la superficie del agar. La prueba se realizó por triplicado y la asignación se realizó al azar. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Tabla 1. Características de los microorganismos utilizados

Especie	Gram	Condiciones Cruciales			
		Medio de Cultivo		Temperatura	Tiempo de Crecimiento
		Sólido	Líquido		
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Negativo	Mac Conkey EMB Müeller Hinton	Infusión cerebro corazón (BHI)	37°C	2 horas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positivo	Estafilococo 110 Sal y Manitol Müeller Hinton	Infusión cerebro corazón (BHI)	37°C	2 horas
<i>Shigella dysenteriae</i>	Negativo	Mac Conkey Salmonella Shigella EMB Müeller Hinton	Infusión cerebro corazón (BHI)	37°C	2 horas
<i>Salmonella entérica serotipo Typhimurium</i>	Negativo	Mac Conkey EMB Salmonella Shigella Müeller Hinton	Tetracionato Infusión cerebro corazón (BHI)	37°C	2 horas
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Negativo	Müeller Hinton Mac Conkey Salmonella Shigella	Infusión cerebro corazón (BHI)	37°C	2 horas
<i>Candida albicans</i>	Positivo	Dextrosa Sabouraud	Dextrosa Sabouraud	37°C	6 horas

Al término de la prueba se midieron los diámetros de los halos de inhibición realizando el tratamiento estadístico de los datos, determinando los valores de tendencia central y desviaciones, para cada microorganismo tratado con los diferentes

compuestos (cloranfenicol, mentol, mentona, acetato de mentilo, mentona oxima, mentona fenilhidrazona y bencilimina de la mentona) sobre cada especie (*E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *S. dysenteriae*, *S. entérica serotipo Typhymurium*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*).

#### 9.2.5 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los derivados de mentol y mentona a través de la técnica de dilución en caldo

A partir de cultivos con 18 horas de crecimiento de *S. aureus* y *C. albicans* en sus respectivos medios de cultivo (ver Tabla 1) incubando a 37°C para obtener una turbidez equivalente al estándar 5 de la escala de McFarland (2 – 6 horas) (Sidney et al., 1978).

De ese inóculo se diluyó 1/100 (0.2 mL del inóculo en 19.8 mL del medio de cultivo correspondiente). Para obtener un inóculo de  $10^6$  UFC/mL.

Se prepararon 16 tubos: 15 con 1 mL y otro con 1.8 mL de medio de cultivo. Adicionalmente se dispuso de una solución madre con los derivados de mentol y mentona con una concentración de 6000  $\mu\text{g/mL}$ . Se pesaron 0.012 g del compuesto y 0.048 g de polivinilpirrolidona (PVP), se agregaron 3 mL de *n*-hexano y 10 mL de etanol. Se agitó y una vez disuelto se evaporó el disolvente a presión reducida. Finalmente se colocó dentro de una estufa de vacío por 3 horas. La mezcla se resuspendió con 0.4 mL de agua destilada.

Se añadieron 0.2 mL de la solución anterior al tubo de 1.8 mL de medio de cultivo. A partir de este tubo, se prepararon diluciones dobles seriadas tomando 1 mL del primer tubo (600  $\mu\text{g/mL}$ ) y transfiriéndolo al segundo (300  $\mu\text{g/mL}$ ). Después de mezclar bien el contenido del segundo tubo, se transfirió un mL al tercer tubo (150  $\mu\text{g/mL}$ ) y así sucesivamente hasta el tubo 14, del cual se tomó un mL y se descartó. De esta manera se obtuvieron diluciones dobles desde 600  $\mu\text{g/mL}$  hasta 0.07  $\mu\text{g/mL}$ . Los tubos 15 y 16 fueron los controles positivo y negativo, respectivamente. A cada uno de los tubos con los compuestos de prueba se le añadió 1 mL del inóculo, excepto al tubo 16. Las

concentraciones finales de las diluciones de los derivados de mentol y mentona fue la mitad de las originales (de 300 hasta 0.02 mg/mL). Los tubos se incubaron a 37°C durante 18 horas. Posteriormente se leyeron los resultados y se calculó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

## **10. Prueba de toxicidad aguda de los derivados de mentol y mentona**

### *10.1 Método de evaluación*

La toxicidad aguda se midió mediante la técnica reportada por Lorke en 1983 de la fenilhidrazona y de la oxima de la mentona.

### *10.2 Compuestos a evaluar*

Las cuatro dosis que se administraron fueron: 5000, 2500, 1250 y 625 mg/kg de peso. Se prepararon pesando 0.425, 0.21, 0.111 y 0.053 g de los derivados de mentol y mentona y 0.839, 0.42, 0.222 y 0.106 g de polivinilpirrolidona (PVP), respectivamente; se les agregaron 3 mL de *n*-hexano R.A. y 10 mL de etanol. Se agitaron hasta total disolución y se quitó el exceso de hexano y etanol a presión reducida. Se pusieron las mezclas finales en la estufa de vacío por 3 horas. Se resuspendieron con 1.1 mL de agua purificada.

### *10.3 Modelo animal*

Se utilizaron 24 ratones machos de cepa CD-1, sanos, con un peso de 25 - 30 g, proporcionados por el Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Se formaron cuatro grupos de tres animales cada uno. Los animales agrupados se mantuvieron durante cuatro días con alimento comercial Lab Diet y agua *ad libitum*, a temperatura controlada de  $20 \pm 4^\circ\text{C}$ , con un ciclo de luz / oscuridad de 12 / 12 horas y una humedad relativa de  $70 \pm 5\%$ .

#### *10.4 Procedimiento experimental*

Para realizar la prueba de toxicidad aguda se prepararon cuatro dosis de los compuestos a estudiar (mentona fenilhidrazona y mentona oxima), las cuales fueron: 5000, 2500, 1250 y 625 mg/kg de peso (basadas en el % de sólidos totales) según la Organización de Desarrollo y Cooperación Económica (1996). El alimento fue retirado 1 hora antes de comenzar el experimento y vuelto a suministrar después de las administraciones. Posterior a la hora, mediante una sonda intragástrica, se administró 1 mL del producto a evaluar a los grupos tratados y agua destilada a los grupos controles al mismo volumen.

Los animales fueron observados individualmente durante las primeras 6 horas, con especial atención durante las primeras 4 horas y posteriormente cada 24 horas hasta completar las 72 horas del experimento, recogiéndose signos y síntomas de toxicidad.

Las observaciones estuvieron dirigidas a la determinación de: muerte y tiempo de ocurrencia de la misma, signos y síntomas de toxicidad incluyendo su comienzo y duración, además de cambios en la piel, membranas de mucosas y ojos, en el sistema respiratorio, en el circulatorio, en el nervioso central y en el autónomo, en la actividad somatomotora y en la conducta. Se prestó especial atención a la potencial ocurrencia de temblor, convulsiones, salivación, diarrea, letargo y somnolencia.

Al concluir el experimento se sacrificaron los animales por desnucamiento.

## 11. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 11.1 Análisis químico

En este trabajo se sintetizaron los derivados de mentol y mentona: acetato de mentilo, mentona oxima, mentona fenilhidrazona y bencilimina de la mentona; se llevó a cabo mediante la aplicación de las técnicas anteriormente descritas.

#### 11.1.1 Acetato de mentilo

La síntesis del acetato de mentilo (Figura 1), se llevó a cabo mediante una reacción de acetilación usando el método reportado por Navarrete (1991), en el cual la introducción del grupo acetilo en la molécula del mentol usando anhídrido acético en un procedimiento de dos pasos con un rendimiento de 77.7%. En el espectro de IR se aprecian las señales características del grupo carbonilo de un éster en  $1730.39\text{ cm}^{-1}$ , las señales de la unión C – O en  $1231.81$  y  $1021.53\text{ cm}^{-1}$ ; mientras que las señales para los carbonos  $\text{sp}^3$  en  $2949.58$ ,  $2920$ ,  $2866.44\text{ cm}^{-1}$ . En su espectro de  $^1\text{H-RMN}$  se aprecia la señal característica del H del C1, el cual da un triple de doble a  $\delta$  4.60, la multiplicidad de la señal de este protón se debe a su cercanía con los H del C2 y C6. Los hidrógenos del metilo del grupo acetilo dieron un singulete a 1.96 ppm; la señal de 1.79 ppm fue asignada al H del metino del isopropilo. El multiplete en 1.59 ppm se asignó al metileno C6; el metino en C5 dio un multiplete a 1.41 ppm. El metino en C2 apareció como multiplete a 1.29 ppm. El resto de las señales atribuidas a los metilenos presentes en la estructura dieron multipletes en la región 0.69 – 0.88 ppm. El número de señales en el espectro de  $^{13}\text{C-RMN}$  corresponden al número de carbonos presentes en la estructura y no se hicieron intentos para especificar que carbono corresponde al desplazamiento químico observado. Sin embargo, sobresale la señal que aparece a 169.25 ppm la cual fue asignada al carbonilo del éster y la señal de 72.9 ppm la cual se asignó a la base oxigenada.

De acuerdo a los resultados obtenidos por espectroscopia IR y RMN, se muestra concordancia con la estructura del acetato de mentilo.

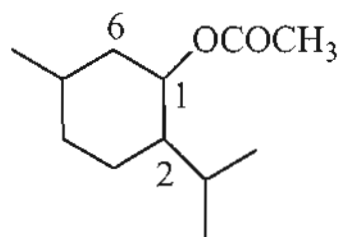


Figura 1 Acetato de mentilo

### 11.1.2 Mentona

La mentona (Figura 2) se obtuvo mediante un proceso de oxidación, la técnica que se utilizó es la reportada por Sandborn (1941) el mentol (1) se oxida con permanganato de potasio con un procedimiento de tres pasos; con un rendimiento de 97.8%. En el espectro de IR se aprecian la señal de  $1703.6\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a una cetona cíclica, y las señales de  $2921.91$  y  $2866.99\text{ cm}^{-1}$  son de los carbonos  $\text{sp}^3$ . En su espectro de  $^1\text{H-RMN}$  sobresale la señal atribuida al H del C2 que aparece a 2.20 ppm como un multiplete; mientras que el doblete a 2.16 ppm fue atribuida al metileno en C6. En el espectro de  $^{13}\text{C-RMN}$  la señal en 214.15 ppm se atribuyó al carbonilo de la cetona; se observó una señal adicional a 211.91 ppm del grupo carbonilo de un isómero de la mentona.

De acuerdo a los resultados obtenidos por espectroscopia IR y RMN está en perfecto acuerdo con la estructura de la mentona.

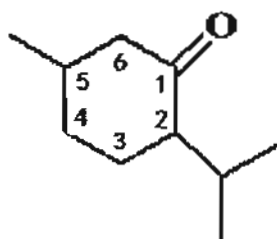


Figura 2 Mentona



### 11.1.3 Mentona oxima

La síntesis de la mentona oxima (Figura 3) se llevó a cabo obtuvo mediante una reacción de condensación reportada por Fisher (2007), en la cual la introducción del grupo oxima es en medio básico. Con un procedimiento de dos pasos con un rendimiento de 91.13%. En su espectro de IR se aprecia la señal ancha de  $3307.42\text{ cm}^{-1}$  característico del  $-\text{OH}$ ; las señales a  $2953.69$ ,  $2924.98$ ,  $2868.98\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a los H's unidos a los carbonos  $\text{sp}^3$ ; y la de  $1212.9\text{ cm}^{-1}$  representa el enlace de C-N. En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN la señal ancha a un desplazamiento de  $8.74\text{ ppm}$  fue asignada al hidrógeno del hidroxilo, la señal a  $3.03\text{ ppm}$  se asignó al H del C2; mientras que los metilenos de C6 dieron multiplete a  $2.13\text{ ppm}$ ; el resto de los hidrógenos alifáticos se esparcieron como multipletes en el intervalo  $0.92 - 1.86\text{ ppm}$ . En el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN se distingue la señal a  $161.17\text{ ppm}$  asignada al carbono base de la oxima.

A partir de a los resultados obtenidos a través de espectroscopia IR y RMN se indica la exitosa obtención de la estructura de la mentona oxima.

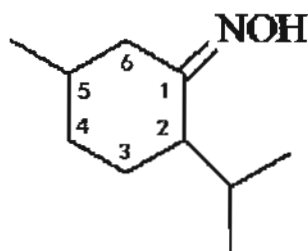


Figura 3 Mentona oxima

### 11.1.4 Mentona tiosemicarbazona

La síntesis de la mentona tiosemicarbazona (Figura 4) se llevó a cabo mediante una reacción de condensación usando el procedimiento reportado por Gildemeister (1913). Se obtiene al introducir el grupo tiosemicarbazona usando acetato de sodio en etanol. El procedimiento permitió la obtención de la tiosemicarbazona pero el rendimiento fue de 1.67%. En el espectro de IR se aprecian las señales a  $1732.52$ ,  $1718.11$  y  $1212.68$

$\text{cm}^{-1}$  atribuidas al fragmento  $\text{S}=\text{C}-\text{NH}_2$ . En el espectro de  $^1\text{H}-\text{RMN}$  las señales a 7.51, 7.36 y 6.99 ppm se asignaron a los H's de  $\text{NH}_2$  y  $\text{NH}$ ; la señal a 2.17 ppm se atribuyó al metino del C2; el metino del isopropilo dio un multiplete a 2.04 ppm; y el multiplete a 2.01 ppm se atribuyó al metileno de la posición 6; el resto de las señales de hidrógenos alifáticos se distribuyeron en el intervalo de 0.85 - 1.57 ppm. Mientras que en el espectro de  $^{13}\text{C}-\text{RMN}$  no fue posible detectar ninguna señal ya que el producto resultó insoluble en cloroformo deuterado y en  $\text{DMSO}-d_6$ . Sin embargo, el punto de fusión coincidió con el reportado en la literatura.

Por lo que, no es posible afirmar que se trata de la estructura de la mentona tiosemicarbazona, debido a los problemas presentados anteriormente.

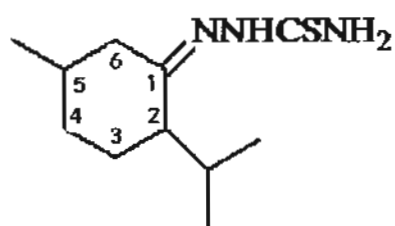


Figura 4 Mentona tiosemicarbazona

#### 11.1.5 Mentona fenilhidrazona

No se encontró algún informe en la literatura química relacionado con la síntesis de la mentona fenilhidrazona (6) (Figura 5), no obstante si se encontró un registro de punto de fusión,  $53^\circ\text{C}$  (Sethi, 2006).

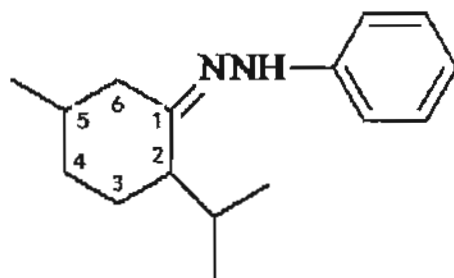


Figura 5 Mentona fenilhidrazona

Se realizaron 3 intentos empleando la mentona y clorhidrato de fenilhidrazina. En el primer caso se utilizó ácido acético, a temperatura de ebullición durante 3 horas, al

término de este período se dejó enfriar y después se neutralizó el exceso de ácido acético, se le realizaron extracciones con acetato; pero al realizar el espectro de  $^1\text{H}$  – RMN se pudo observar que no era el producto de interés. Para el segundo intento se libero la base del clorhidrato, usando ácido sulfúrico como catalizador y agitación por 12 horas; después de realizar cromatografía en placa fina se observó que no había reacción. En estos dos casos, los espectros obtenidos de los crudos de reacción indicaron que se trataban de mezclas complejas donde predominaban productos de dimerización de la mentona.

Finalmente el producto deseado se consiguió mediante el empleo de la técnica de microondas, con un rendimiento de 63.63%. En el espectro de IR las absorciones en 3015.66, 2955.25, 2924.99,  $\text{cm}^{-1}$  representan a los carbonos  $\text{sp}^2$ . Mientras que la señal a 1683.14  $\text{cm}^{-1}$  se asignó a C=N. En el espectro RMN- $^1\text{H}$  el multiplete en el intervalo 7.14 – 7.3 se atribuyó a los hidrógenos aromáticos, el multiplete a 2.81 ppm se le asignó al metino en posición 2, el multiplete a 2.34 ppm al metilo del grupo isopropilo y el multiplete a 2.13 ppm fue asignado a los hidrógenos del metileno de C5. El resto de los hidrógenos alifáticos se extendió en el intervalo 0.85 – 1.58 ppm dando una integración completa para los hidrógenos de la fenilhidrazona. En el espectro RMN- $^{13}\text{C}$ , la señal de carbono que aparece a 155.25 ppm fue asignada a C=N, mientras las señales que aparecen a 119.8, 122.95, 123.84, 127.18 ppm se les atribuyen a los carbonos aromáticos del fenilo. En base a los resultados y a los datos espectroscópicos obtenidos se determinó que la estructura asignada al producto aislado corresponde a la mentona fenilhidrazona. De tal manera que aún cuando el producto se obtuvo en forma de un aceite espeso de color café, es probable que se requiera de un proceso de purificación adicional para favorecer la cristalización de la misma.

Para la síntesis de la imina de la mentona, derivada de la mentona y 2-aminoimidazo[1,2-a]piridina-2-carboxilato de etilo, se realizaron 4 intentos, tras los cuales, se recuperaba la materia prima. Se decidió descartar este compuesto y se probó con otras aminas.

### 11.1.6 Ciclohexilimina de la mentona

La primera amina que se consideró fue la ciclohexilamina, para obtener la ciclohexilimina de la mentona utilizando como fuente de energía microondas. La reacción tuvo una duración de 45 minutos, pasados unos minutos de concluida la reacción se empezó a apreciar la presencia de un precipitado café (Figura 6), obteniéndose un rendimiento de 13.16%. En el espectro de IR la señal que aparece a  $1660\text{ cm}^{-1}$  se la asignó a al grupo imino,  $\text{C}=\text{N}$ . En el espectro de  $\text{RMN-}^1\text{H}$ , el multiplete a 2.65 ppm se le asignó al hidrógeno de la posición 2, mientras que la señal a 2.32 ppm se le atribuyó al metino del isopropilo y el multiplete a 2.13 ppm se le atribuyó al metileno en la posición 5. El resto de los hidrógenos alifáticos aparecieron en un intervalo de 0.93 - 1.78 ppm. En el espectro de  $\text{RMN-}^{13}\text{C}$  la señal que aparece a 212.50 ppm se le asignó al carbono de imino,  $\text{C}=\text{N}$ . El compuesto resultó ser inestable por lo que no se pudo utilizar en las pruebas microbiológicas.

De acuerdo a los resultados obtenidos como a la espectroscopia IR y RMN está en perfecto acuerdo con la estructura propuesta para la ciclohexilimina de la mentona, debido a que el comportamiento característico del grupo ciclohexilo aparece en el espetro de  $^1\text{H-RMN}$ .

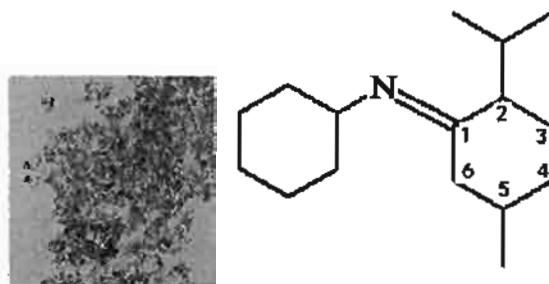


Figura 6 Ciclohexilimina de la mentona

### 11.1.7 Bencilimina de la mentona

Para obtener la bencilimina de la mentona (Figura 7). De igual manera que la ciclohexilimina, se ocupó el microondas químico, esta reacción también tuvo una

duración de 45 minutos. La reacción de la bencilamina con la mentona al concluir se precipitó un sólido cristalino, obteniéndose un rendimiento de 93.75%. En el espectro de IR la señal que aparece a 1657 se le atribuyó al grupo imino, C=N. En el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN, el multiplete centrado a 7.29 ppm se le asignó a los hidrógenos del anillo aromático. Los hidrógenos del metileno bencílico dieron un singulete a 3.87 ppm. La señal que aparece a 2.32 ppm se le atribuyó al hidrógeno de C2, el resto de los hidrógenos alifáticos se extendió en el intervalo 0.93 - 1.90 ppm. En el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$ , la señal que aparece a 212.09 ppm se le asignó al carbono del grupo imino, C=N, mientras las señales que aparecen a 126.52, 126.77, 128.24 ppm corresponden a los carbonos aromáticos del fenilo presentes en la estructura.

De acuerdo a los resultados obtenidos por espectroscopia IR y RMN las señales están en perfecto acuerdo con la estructura propuesta para la bencilimina de la mentona.

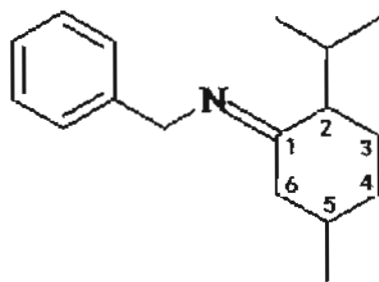


Figura 7 Bencilimina de la Mentona

De los resultados obtenidos por análisis elemental del producto sintetizado se puede observar la congruencia entre los valores hallados y los calculados para cada una de las estructuras. Lo que hay que resaltar es que ninguna de las iminas sintetizadas se encuentra reportada en literatura; por lo que podemos asegurar que son productos nuevos.

### 11.2 Análisis farmacológico

Para llevar a cabo la evaluación de la actividad antimicrobiana de los derivados de mentol y mentona: acetato de mentilo, mentona oxima, mentona fenilhidrazona y

bencilimina de la mentona, se usaron como herramientas biológicas al cloranfenicol que es un antibiótico de amplio espectro y que se sabe que tienen efectos antibacteriales sobre la mayoría de las bacterias; al mentol y la mentona, los cuales son monoterpenos que han sido plenamente estudiados por varios investigadores (Trombetta et. al., 2005; Cano, 2007) y que se sabe que tienen efectos antimicrobianos sobre cepas de *E. coli*, *S. aureus* y *C. albicans*, es así, que estos estándares antibacteriales sirvieron para evaluar el efecto que inducen los derivados sobre las especies bacterianas de estudio.

### 11.2.1 Técnica de difusión en agar

En el método de difusión en agar, cada microorganismo fue inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocaron discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico. Sin embargo, la solubilidad de los compuestos sintetizados en agua resultó baja, por lo que fue necesario emplear algunos disolventes orgánicos para obtener la miscibilidad en el medio de cultivo y con ello alcanzar las concentraciones deseadas.

Una primera prueba antimicrobiana con el acetato de mentilo, demostró que se le debían realizar pruebas de solubilidad; ya que a la hora de tratar de formar una solución con él y el medio de cultivo estéril se formó una emulsión de agua y aceite; y debido a esto, al momento de la inoculación en el medio de cultivo hubo crecimiento de *E. coli*. De igual forma al momento de aplicar los 50  $\mu$ L de las diferentes diluciones en la placa de medio de cultivo se apreció que el acetato de mentilo no difundió a través de la placa a causa de su comportamiento oleaginoso por lo que quedó en forma de burbuja y a su alrededor hubo crecimiento de *E. coli*, tanto a las 24 y 48 horas (Figura 8).

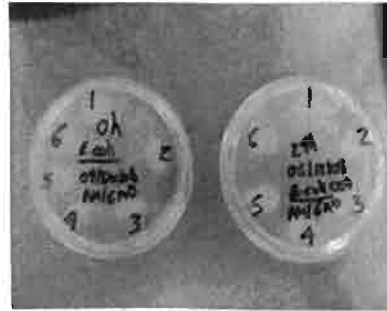


Figura 8 Prueba con el acetato de mentilo

Debido al problema anterior a todos los derivados de mentol y mentona, se les realizaron pruebas de solubilidad en diferentes disolventes y mezclas de ellos, se probaron: etanol al 95%, etanol al 10%, isopropanol, DMSO, una mezcla de isopropanol: DMSO (1:1), otra mezcla de isopropanol: DMSO: derivado (0.25: 0.25: 0.5mL), glicerina, PVP/*n*-hexano/etanol (Figuras 9 y 10). El mejor medio para disolver estos compuestos fue PVP/*n*-hexano/etanol.

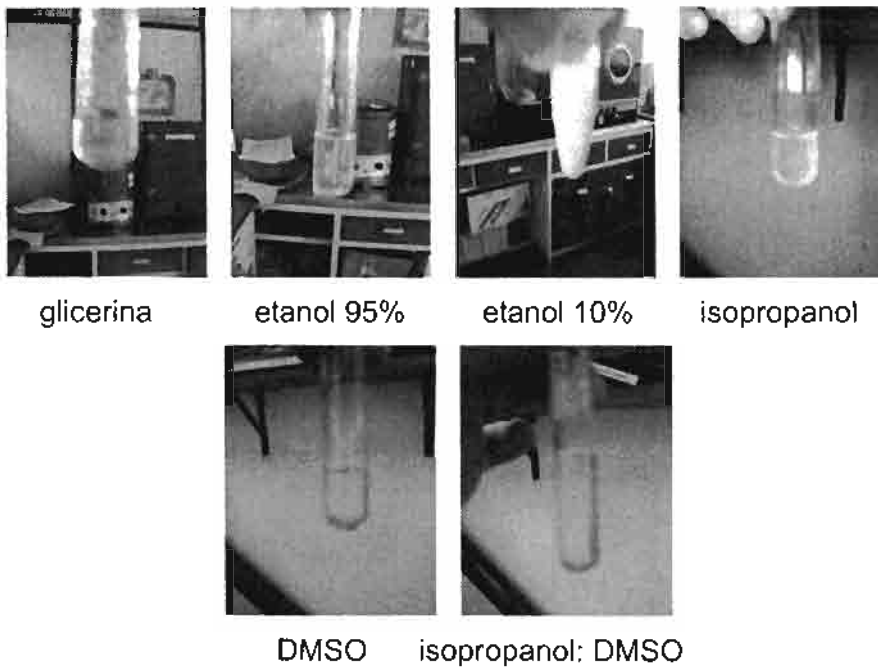


Figura 9 Pruebas de solubilidad del acetato de mentilo

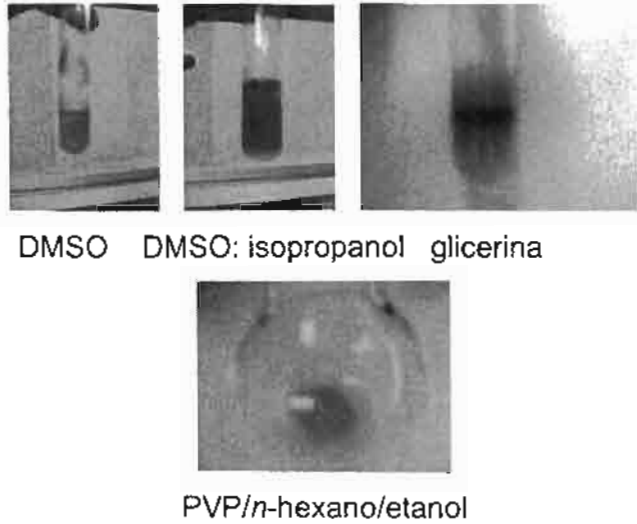


Figura 10 Pruebas de solubilidad de la mentona fenilhidrazona

La prueba con *Escherichia coli* O157: H7, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 2 Pruebas Antimicrobianas de los derivados de mentol y mentona contra *Escherichia coli* O157: H7

Compuesto	Concentración	Halo de inhibición (cm)
Cloranfenicol	30 µg	-
Mentol	400 µg/mL	-
Mentona	400 µg/mL	-
Acetato de mentilo	600 - 75 µg/mL	-
Mentona oxima	600 - 75 µg/mL	-
Mentona fenilhidrazona	600 - 75 µg/mL	-
Bencilimina de la mentona	600 - 75 µg/mL	-



Figura 11 *Escherichia coli* O157: H7. CI: cloranfenicol a 30 µg, A: derivado a 600 µg/mL, B: derivado a 300 µg/mL, C: derivado a 150 µg/mL, D: derivado a 75 µg/mL, M1: mentol a 400 µg/mL y H: hexano



Como se puede apreciar en la Tabla 2 ninguno de los compuestos probados (cloranfenicol, mentol, mentona, acetato de mentilo, mentona oxima, mentona fenilhidrazona y bencilimina de la mentona) presentaron actividad en contra de *Escherichia coli*; por lo cual se puede concluir que esta cepa es resistente a todos los compuestos evaluados (Figura 11). Las cepas de *E. coli* O157:H7 resistentes a antibióticos son motivo de mayor preocupación por cuanto los brotes diarreicos, colitis hemorrágicas y el síndrome urémico hemolítico que ocasionan, ya que son de más difícil tratamiento; por lo que la búsqueda de nuevos fármacos tiene que seguir adelante.

La prueba con *Pseudomona aeruginosa*, reveló los siguientes resultados:

Tabla 3 Pruebas Antimicrobianas de los derivados de mentol y mentona contra *Pseudomona aeruginosa*

Compuesto	Concentración	Halo de inhibición (cm)	$\sigma$	EE	CV
Cloranfenicol	30 $\mu\text{g}$	2.84	0.49	0.16	17.05
Mentol	400 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Mentona	400 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Acetato de mentilo	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Mentona oxima	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Mentona fenilhidrazona	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Bencilimina de la mentona	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			

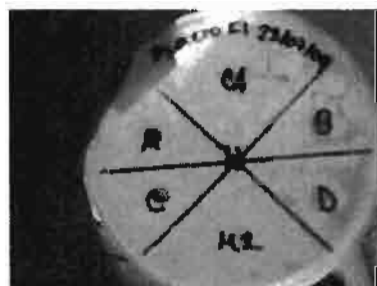


Figura 12 *Pseudomona aeruginosa*. CI: cloranfenicol a 30  $\mu\text{g}$ , A: derivado a 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , B: derivado a 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , C: derivado a 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , D: derivado a 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , M1: mentol a 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y H: hexano

En la Tabla 3 se puede apreciar que solamente el cloranfenicol fue activo contra *Pseudomona aeruginosa*, mientras que el mentol, mentona y los derivados de mentol y mentona no presentaron actividad (Figura 12). Sin embargo, en muestras clínicas la *Pseudomona aeruginosa* es resistente al cloranfenicol inclusive a altas concentraciones (Pérez-Monrás et. al., 2006).

La prueba con *Salmonella entérica serotipo Typhymurium*, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 4 Pruebas Antimicrobianas de los derivados de mentol y mentona contra *Salmonella entérica serotipo Typhymurium*

Compuesto	Concentración	Halo de inhibición (cm)	$\sigma$	EE	CV
Cloranfenicol	30 $\mu\text{g}$	2.29	0.34	0.11	14.89
Mentol	400 $\mu\text{g/mL}$	-			
Mentona	400 $\mu\text{g/mL}$	-			
Acetato de mentilo	600 - 75 $\mu\text{g/mL}$	-			
Mentona oxima	600 - 75 $\mu\text{g/mL}$	-			
Mentona fenilhidrazona	600 - 75 $\mu\text{g/mL}$	-			
Bencilimina de la mentona	600 - 75 $\mu\text{g/mL}$	-			

En la Tabla 4 se puede apreciar que el cloranfenicol fue el único que presentó actividad en contra de *S. entérica serotipo Typhymurium*, mientras que el mentol, mentona y los derivados de mentol y mentona no presentaron actividad. El cloranfenicol continúa siendo el medicamento de primera elección para el tratamiento de las infecciones causadas por *S.entérica serotipo Typhimurium*.

Al probar con *Shigella dysenteriae*, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 5 Pruebas Antimicrobianas de los derivados de mentol y mentona contra *Shigella dysenteriae*

Compuesto	Concentración	Halo de inhibición (cm)	$\sigma$	EE	CV
Cloranfenicol	30 $\mu\text{g}$	2.46	0.34	0.10	13.74
Mentol	400 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Mentona	400 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Acetato de mentilo	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Mentona oxima	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Mentona fenilhidrazona	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Bencilimina de la mentona	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			

En la Tabla 5 se puede apreciar que en contra de *Shigella dysenteriae* el único compuesto que presentó actividad fue el cloranfenicol, el cual es el antibiótico de uso común; mientras que el mentol, mentona y los derivados de mentol y mentona no presentaron actividad. Para bacilos gram negativos aeróbicos la actividad del cloramfenicol es diversa; sin embargo es activo contra *Shigella dysenteriae*.

En la prueba con *Staphylococcus aureus*, se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6 Pruebas Antimicrobianas de los Derivados de Mentol y Mentona contra *Staphylococcus aureus*

Compuesto	Concentración	Halo de inhibición (cm)	$\sigma$	EE	CV
Cloranfenicol	30 $\mu\text{g}$	2.15	0.33	0.08	15.24
Mentol	400 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1.27	0.06	0.03	4.56
Mentona	400 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1.1	0.1	0.06	9.09
Acetato de mentilo	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Mentona oxima	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Bencilimina de la mentona	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-			
Mentona fenilhidrazona	600 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1.08	0.12	0.05	10.79
Mentona fenilhidrazona	300 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1.03	0.18	0	17
Mentona fenilhidrazona	150 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.97	0.19	0.08	19.26
Mentona fenilhidrazona	75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.88	2E-01	0	23

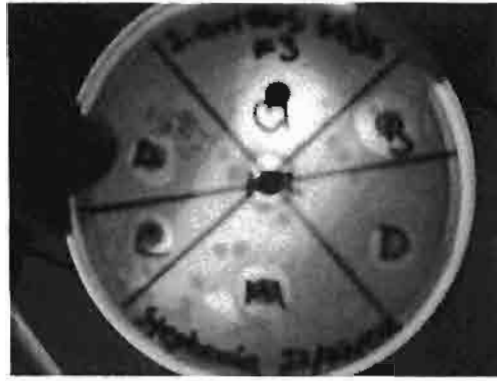


Figura 13 *Staphylococcus aureus* CI: cloranfenicol a 30  $\mu\text{g}$ , A: derivado a 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , B: derivado a 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , C: derivado a 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , D: derivado a 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , M1: mentol a 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y M2: mentona a 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$

En la Tabla 6 se puede apreciar que en contra de *Staphylococcus aureus* los compuestos que presentaron actividad fue el cloranfenicol, el mentol, la mentona y la mentona fenilhidrazona en todas sus concentraciones (600, 300, 150 y 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (Figura 13), mientras que el resto de los derivados de mentol y mentona no presentaron actividad. El *Staphylococcus aureus* es susceptible al cloranfenicol, ya que es bacteriostático en contra de este microorganismo.

#### 11.2.2 Técnica de dilución en caldo con *Staphylococcus aureus*

Como ya se había encontrado a través de la prueba de difusión en agar de que la mentona fenilhidrazona presentaba actividad antimicrobiana en contra de *S. aureus*, se le realizó la prueba de dilución en tubo para determinar su concentración mínima inhibitoria (CMI), obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 7 Prueba de la concentración mínima inhibitoria de la mentona fenilhidrazona con *Staphylococcus aureus*

Tubo	Concentración sin bacteria	Concentración con bacteria	Curva 1	Curva 2
1	600 µg/mL	300 µg/mL	-	-
2	300 µg/mL	150 µg/mL	-	-
3	150 µg/mL	75 µg/mL	-	-
4	75 µg/mL	37.5 µg/mL	+	+
5	37.5 µg/mL	18.8 µg/mL	+	+
6	18.8 µg/mL	9.4 µg/mL	+	+
7	9.4 µg/mL	4.7 µg/mL	+	+
8	4.7 µg/mL	2.3 µg/mL	+	+
9	2.3 µg/mL	1.2 µg/mL	+	+
10	1.2 µg/mL	0.6 µg/mL	+	+
11	0.6 µg/mL	0.3 µg/mL	+	+
12	0.3 µg/mL	0.15 µg/mL	+	+
13	0.15 µg/mL	0.07 µg/mL	+	+
14	0.07 µg/mL	0.035 µg/mL	+	+
15	Control Positivo	Control Positivo	+	+
16	Control Negativo	Control Negativo	-	-
		Crecimiento	+	
		s/Crecimiento	-	
		CMI		

Después de haber realizado la prueba y de haber revisado los tubos (Tabla 7), se pudo observar que la concentración mínima inhibitoria fue de 75 µg/mL, siendo la última concentración probada en las pruebas antimicrobianas. Y se pudo apreciar que en el tubo No. 3 no hay crecimiento bacteriano, sin embargo hubo una ligera turbidez debida al compuesto que desde un principio se le agregó, al igual que en el tubo 1 y 2 en comparación con el tubo No. 15 (control positivo) y el tubo No. 16 (control negativo). En comparación con la concentración mínima efectiva del cloranfenicol, la cual es de 12.5 µg/mL para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* es mayor. Mientras que al compararla con las concentraciones mínimas efectivas del mentol y de la mentona las cuales son de 400 µg/mL la concentración de la mentona fenilhidrazona es menor.

Con la información obtenida anteriormente, se realizó una exhaustiva búsqueda sobre todos los fármacos que se utilizan para el tratamiento de la infección causada por

*S.aureus* y poder localizar las semejanzas entre las estructuras de las moléculas; encontrando que la más comúnmente utilizada es la cloxacilina, en cepas que son susceptibles; pero aquellas que son meticilino resistentes (SAMR) y que no responden a todos los antibióticos, se utiliza en la mayoría de los casos la vancomicina. Aunque actualmente se cuenta con un amplio arsenal de antimicrobianos (Anexo 2), la mayor parte de ellos presentan severos efectos adversos como es el caso del cloranfenicol que puede causar daño a la médula ósea, mientras que la vancomicina causa ototoxicidad; por lo que, es preferible su uso en forma restringida. La recomendación es que la búsqueda siga adelante para encontrar antimicrobianos efectivos e inocuos para consumo humano.

Al hacer la comparación entre las estructuras de los fármacos: cloxacilina, vancomicina y mentona fenilhidrazona; se pudieron observar algunas diferencias entre ellas están: que que son de familias diferentes la cloxacilina es una penicilina, la vancomicina es un glucopéptido y la mentona fenilhidrazona es un terpeno; otras es que si bien en los dos fármacos de uso más común, existe nitrógeno en la estructura, ninguno de ellos presenta un arreglo C - N – NH como se encuentra en la mentona fenilhidrazona; el fármaco más semejante es el imipenem, sin embargo los dos nitrógenos en este caso están separados por un carbono. La tercera diferencia es en la concentración a la que son activos en contra de *S. aureus*: la cloxacilina actúa a una concentración de 1 µg, la vancomicina a 30 µg y la mentona fenilhidrazona a 75 µg/mL.

### 11.2.3 Técnica de difusión en agar con *Candida albicans*

Como se ha reportado que tanto el mentol, como la mentona presentan actividad antifúngica contra *C. albicans*, se probaron los derivados de mentol y mentona sintetizados (acetato de mentilo, mentona oxima, mentona fenilhidrazona y bencilimina de la mentona) para ver si alguno de ellos cuenta con la misma propiedad, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 9 Pruebas antimicrobianas de los derivados de mentol y mentona contra *Candida albicans*

Compuesto	Concentración	Halo de inhibición (cm)	$\sigma$	EE
Cloranfenicol	30 $\mu\text{g}$	-		
Mentol	500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.12	0.04	0.015
Mentona	500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.1	1.7E-17	9.81E-18
Acetato de mentilo	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-		
Bencilimina de la mentona	600 - 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-		
Mentona oxima	600 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.27	0.15	0.06
Mentona oxima	300 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.13	0.06	0.03
Mentona oxima	150 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-		
Mentona oxima	75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-		
Mentona fenilhidrazona	600 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.27	0.16	0.07
Mentona fenilhidrazona	300 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.2	0	0.00
Mentona fenilhidrazona	150 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-		
Mentona fenilhidrazona	75 $\mu\text{g}/\text{mL}$	-		



Mentona Fenilhidrazona



Mentona Oxima

Figura 14 *Candida albicans* C1: cloranfenicol a 30  $\mu\text{g}$ , A: derivado a 600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , B: derivado a 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , C: derivado a 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , D: derivado a 75  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , M1: mentol a 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y M2: mentona a 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$

En la Tabla 9 se puede apreciar que en contra de *C. albicans* los compuestos que presentaron actividad fue el mentol, mentona, mentona oxima y mentona fenilhidrazona en sus concentraciones (de 600, 500 y 300  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (Figura 14), de esta forma se confirmó la actividad antifúngica del mentol y la mentona; además de dos nuevos compuestos antifúngicos.

#### 11.2.4 Técnica de dilución en caldo con *Candida albicans*

Por los resultados obtenidos en la prueba de difusión en agar con la mentona oxima y mentona fenilhidrazona; podemos concluir que estos compuestos tienen actividad antifúngica al menos contra *C. albicans*, también se realizó la prueba de dilución en tubo para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), con los siguientes resultados:

Tabla 10 Prueba de la concentración mínima inhibitoria de la mentona oxima contra *Candida albicans*

Tubo	Concentración sin levadura	Concentración con levadura	Curva 1	Curva 2
1	600 µg/mL	300 µg/mL	-	-
2	300 µg/mL	150 µg/mL	-	-
3	150 µg/mL	75 µg/mL	-	-
4	75 µg/mL	37.5 µg/mL	-	-
5	37.5 µg/mL	18.8 µg/mL	+	+
6	18.8 µg/mL	9.4 µg/mL	+	+
7	9.4 µg/mL	4.7 µg/mL	+	+
8	4.7 µg/mL	2.3 µg/mL	+	+
9	2.3 µg/mL	1.2 µg/mL	+	+
10	1.2 µg/mL	0.6 µg/mL	+	+
11	0.6 µg/mL	0.3 µg/mL	+	+
12	0.3 µg/mL	0.15 µg/mL	+	+
13	0.15 µg/mL	0.07 µg/mL	+	+
14	0.07 µg/mL	0.035 µg/mL	+	+
15	Control Positivo	Control Positivo	+	+
16	Control Negativo	Control Negativo	-	-
		Crecimiento	+	
		s/Crecimiento	-	
		CMI		



Tabla 11 Prueba de la concentración mínima inhibitoria de la mentona fenilhidrazona  
contra *Candida albicans*

Tubo	Concentración sin levadura	Concentración con levadura	Curva 1	Curva 2
1	600 µg/mL	300 µg/mL	-	-
2	300 µg/mL	150 µg/mL	-	-
3	150 µg/mL	75 µg/mL	-	-
4	75 µg/mL	37.5 µg/mL	-	-
5	37.5 µg/mL	18.8 µg/mL	-	-
6	18.8 µg/mL	9.4 µg/mL	+	+
7	9.4 µg/mL	4.7 µg/mL	+	+
8	4.7 µg/mL	2.3 µg/mL	+	+
9	2.3 µg/mL	1.2 µg/mL	+	+
10	1.2 µg/mL	0.6 µg/mL	+	+
11	0.6 µg/mL	0.3 µg/mL	+	+
12	0.3 µg/mL	0.15 µg/mL	+	+
13	0.15 µg/mL	0.07 µg/mL	+	+
14	0.07 µg/mL	0.035 µg/mL	+	+
15	Control Positivo	Control Positivo	+	+
16	Control Negativo	Control Negativo	-	-
		Crecimiento	+	
		s/Crecimiento	-	
		CMI		

Después de analizar los resultados de las pruebas, en la Tabla 10 se puede observar que la concentración mínima inhibitoria de la mentona oxima fue de 37.5 µg/mL. En comparación con las concentraciones mínimas efectivas del mentol y de la mentona las cuales son de 500 µg/mL para inhibir el crecimiento de *C. albicans* es menor.

En el caso de la prueba para la mentona fenilhidrazona, en la Tabla 11, se puede observar que su concentración mínima inhibitoria fue de 18.8 µg/mL. Al comparar la CMI de la mentona fenilhidrazona con las concentraciones mínimas efectivas del mentol y de la mentona las cuales son de 500 µg/mL para inhibir el crecimiento de *C. albicans* es menor.

Los antimicóticos más utilizados para el tratamiento de la candidiasis incluyen por lo general nistatina, fluconazol, ketoconazol, clotrimazol, o anfotericina. Sin embargo, aunque actualmente se cuenta con un amplio arsenal de antimicóticos (Anexo 3), la mayor parte de ellos presentan efectos secundarios como trastornos gastrointestinales tipo náuseas o vómitos y eccema. Por lo que la búsqueda de nuevos antimicóticos sigue adelante.

Al hacer la comparación entre las estructuras de los fármacos: nistatina, fluconazol, ketoconazol, clotrimazol, anfotericina, mentona fenilhidrazona y mentona oxima; se puede observar que existen algunas diferencias entre las que se encuentran: la de que son de familias diferentes: la nistatina y la anfotericina son polienos, el fluconazol, ketoconazol y clotrimazol son imidazoles y triazoles y la mentona fenilhidrazona y la mentona oxima son terpenos; además de que aunque existe la presencia del nitrógeno en todas las estructuras y en las estructuras del fluconazol, itraconazol, terconazol y voriconazol; el enlace C - N - NH característico de la mentona fenilhidrazona y el doble enlace C = N - O de la mentona oxima no se presenta en ninguna de las estructuras de los fármacos del Anexo 3, el más cercano sería la flucitosina, pero es más parecido a la mentona por la presencia del grupo carbonilo. Otra diferencia es en la concentración a la que son activos en contra de *C. albicans*: la nistatina actúa a una concentración de  $\leq 2000$  U/mL, el fluconazol a 100 mg, el ketoconazol a 25.1  $\mu\text{g/mL}$ , el clotrimazol a 12.5  $\mu\text{g/mL}$ , la anfotericina a 0.5  $\mu\text{g/mL}$ , la mentona fenilhidrazona a 18.8  $\mu\text{g/mL}$  y la mentona oxima a 37.5  $\mu\text{g/mL}$ .

#### 11.2.5 Pruebas de toxicidad aguda

El descubrimiento de nuevos compuestos con un elevado potencial terapéutico constituye una alternativa farmacológica de marcado interés en el tratamiento de muchas enfermedades, de ahí la importancia de realizar estudios preclínicos con el propósito de detectar posibles efectos tóxicos.

La introducción de estos compuestos en la terapéutica debe efectuarse sobre una base científica que valide tanto sus acciones farmacológicas como su toxicidad.

Existe una ruta crítica establecida para la evaluación y desarrollo de productos farmacéuticos conformada por una serie de fases de carácter obligatorio, que incluyen evaluaciones farmacológicas y toxicológicas experimentales.

Dentro de la batería de ensayos de primera barrera se encuentran los estudios de toxicidad aguda imprescindibles en la estimación del potencial tóxico de un compuesto, referido como el estudio cuali-cuantitativo de los fenómenos tóxicos y de su aparición en función del tiempo tras la administración de una dosis del compuesto en el transcurso de 24 horas.

Se llevó a cabo la prueba de toxicidad aguda para determinar la dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) de la mentona oxima y de la mentona fenilhidrazona; obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 13 Prueba de toxicidad aguda de la mentona oxima y de la mentona fenilhidrazona

DL <sub>50</sub> cloranfenicol		1500 mg/kg
DL <sub>50</sub> mentol		4380 mg/kg
DL <sub>50</sub> mentona		3000 mg/kg
Derivados de mentol y mentona		
Dosis mg/kg	Mentona oxima n = 3	Mentona fenilhidrazona n = 3
5000	-	-
2500	-	-
1250	-	-
625	-	-
V. Respuesta	Se observaron a los ratones cada hora y hasta las 72 horas.	
Respuesta	No hay presencia de muertes o síntomas indicativos de toxicidad a ninguna de las dosis administradas.	
Observaciones	Siempre se registró una conducta normal en los ratones a todas las dosis en el tiempo que duró el experimento, con reflejo postural normal, hábitos de aseo y respuesta habitual a los estímulos, así como consumo de alimentos y agua como corresponde a su especie.	

En la Tabla 13 se puede observar que la supervivencia de los ratones fue del 100%, siendo esto un indicador de que la  $DL_{50}$  de la mentona fenilhidrazona y de mentona oxima por vía oral es superior a 5000 mg/kg de peso.

## 12. CONCLUSIONES

Las técnicas de síntesis empleadas para la preparación de los derivados de mentol y mentona tuvieron resultados variables: para el acetato de mentilo fue de 77.7%, para la mentona fue de 97.8%, para la mentona oxima fue 91.3%, para la mentona fenilhidrazona fue de 63.6%, para la ciclohexilimina fue de 13.2% y para la bencilimina de la mentona fue de 93.8%.

La síntesis del derivado de la mentona-fenilhidrazona se consiguió mediante el empleo de microondas.

La evaluación de la actividad antimicrobiana indicó que la mentona fenilhidrazona tiene actividad bactericida contra *S. aureus* a una concentración de 75 µg/mL. Asimismo se encontró que la mentona fenilhidrazona tiene actividad fungicida contra *C. albicans* a una concentración de 18.8 µg/mL. Mientras que la mentona oxima presentó actividad fungicida contra la misma especie a una concentración de 37.5 µg/mL.

La mentona fenilhidrazona y la mentona oxima tienen actividad bactericida y fungicida por sí mismos y mostraron un efecto más potente que el mentol y la mentona, por lo que no son profármacos.

La medición de la toxicidad aguda de los compuestos que presentaron actividad bactericida y fungicida indicó que no son letales. Ya que no causaron ninguna muerte, aún cuando fueron administrados por vía oral y a concentraciones muy altas.

### 13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abid, M.; Husain, K.; Azam, A. Synthesis and antiamebic activity of new oximes ether derivatives containing 2 – acetylpyridine / 2 – acetylfuran. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2005. 15 (19) pp. 4375 – 4379.
2. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C.; Turk, M. Antibiotic susceptibility testing by standard single disc method. *American Journal of Clinic and Pathology*. 1996. 45. pp. 493 – 496.
3. Bosquez – Molina, E.; Bautista – Baños, S.; Morales – López, J. Aceites Esenciales: bioconservadores con alto potencial en la industria alimentaria. Alfa Editores Técnicos. México. 2009.
4. Cadorniga, R. Profármacos: Conceptos, objetivos y fundamento teórico. Universidad Complutense de Madrid. España. 1999.
5. Cano, C. Actividad Antimicótica in vitro y Elucidación Estructural del Aceite Esencial de las Hojas de *Minthostachys mollis* “muña”. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. 2007. p. 40
6. Clarke, E. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals Body Fluids and Post – Mortem Material. The Pharmaceutical Press. England. 1969. p. 400.
7. Del Pilar, D.; Rincón, L. Estudio del Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* combinado con Inactivación Térmica, sobre Cepas de *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. 2007. p. 57
8. Demo, M., Oliva, M., Zygadlo, J., Primo, V.; Ramos, B. Determinación de Actividad Antimicrobiana de Componentes Puros de Aceites Esenciales. Congreso de Microbiología. México. 2000.
9. Duke, J. Handbook of Biologically Active Phytochemicals and Their Activities. Ed. CRC, Press. 2007. p. 106.
10. Farías, G. Química Clínica. Ed. Manual Moderno. México. 1999. p. 457.
11. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 9a ed. Tomo 1. Secretaría de Salud. México. 2008. pp 663 – 664.
12. Fisher, H. L., Laboratory Manual of Organic Chemistry, Read Books. USA. 2007. pp. 100 – 101.

13. Fleck, L. La Génesis y el Desarrollo de un Hecho Científico. Alianza Universidad. España. 1986. p. 106.
14. Gildemeister, E. The Volatile Oils Vol1. Ed. John Wiley and Sons. USA. 1993.
15. Goodman, G. A.; Rall, T. W.; Nies, A. S.; Taylor, P. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 8ª ed. Editorial Medica Panamericana. México. 1991. Cap. 55. pp. 956 – 958.
16. Heilbron, Ian, Sir. Dictionary of Organic Compounds. Volume III. Ibogane – NW – Acid. Oxford University Press. USA. 1953. pp. 242 – 246.
17. Kuhn, T. S. La Estructura de la Revoluciones Científicas. Fondo de Cultura Económica. México. 1975.
18. Kurita, N.; Koike, S. (1983). Synergistic antimicrobial effect of ethanol, sodium chloride, acetic acid and essential oil components. Agric. Biol. Chem., 47, 67–75.
19. Litin, Scott C. Clínica Mayo. Libro de la Salud Familiar. Editorial Trillas. México. 2005. pp. 485 – 485
20. Lorke, D. A new approach to practical acute toxicity testing. Arch. Toxicology 54. 1983. pp. 275 - 287
21. Marcen, J. J. Antimicrobianos Naturales. Medicina Naturista. 2000. N° 2. pp.104 – 108.
22. Navarrete, A.; Reyes, B. Curso Básico de Fitoquímica para veterinarios. UNAM. México. 1991. p. 28
23. Oyedeji, A.; Afolayan, A. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil Isolated from South African *Mentha longifolia* (L.) L. subsp. *capensis* (Thunb.) Briq. Essential Oil Research. 2006.
24. Patel, T.; Ishiuj, Y.; Yosipovitch, G. Menthol: A refreshing look at this ancient compound. American Academy of Dermatology. USA. 2007. pp. 873 – 878.
25. Pattnaik, S.; Subramanyam, V.; Bapaji, M.; Kole, C. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of Essential Oils. Microbios. 1997. pp. 39 – 46.
26. Pérez Monrás, M.; Battle Almodóvar, M.; Verdera Hernández, L.; Llop Hernández, A. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* procedentes de pacientes con fibrosis quística. Re. Cubana Med Trop 2006; 58 (3).

27. Rang, H. P. *Farmacología* 5a ed. Ed. Elsevier, España, 2004. p. 100.
28. Rashad El – Zemity, S.; Aly Radwan, M.; El – Monam Mohamed, S.; Mohamed, S. Antibacterial Screening of some essential oils, monoterpenoids and novel N – methyl carbamates based on monoterpenoids against *Agrobacterium tumefaciens* and *Erwinia carotovora*. *Phytopathology and Plant Protection*. 2008. pp. 451 – 461.
29. Sandborn, L. T. L-Menthone, synthesized from menthol. *Organic Syntheses, Coll. Vol. 1*. USA. 1941. p. 340.
30. Sepúlveda, G.; Porta, H.; Rocha, M. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2003. pp. 355 – 363.
31. Sethi, Arun. *Systematic Laboratory Experiments In Organic Chemistry*. Ed. New Age International Publishers. India, 2006. p. 100.
32. Sidney, M.F.; William, J. M.; Elvyn, G. S. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. C. V. Mosby: St. Louis, USA. 1978. pp. 385 – 403.
33. The Merck Index. *An Encyclopedia of Chemical, Drugs, and Biologicals*. 10° Ed. Merck & Co., Inc., N.J. U.S.A. 1983. p. 832.
34. Trombetta, D.; Castelli, F.; Grazia, M.; Venuti, V.; Cristani, M.; Daniele, C.; et. al. Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *American Society for Microbiology*. USA. 2005. pp. 2474 – 2478.
35. Velázquez. *Farmacología Básica y Clínica*. Editorial Médica Panamericana. 18ª Ed. España. 2009. p. 1
36. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants, Volume 2. World Health Organization. Geneva. 2002. pp. 188 – 195.
37. Woo, H.; Gil, B.; Hyun, N.; Park, Y.; Woo, C.; Kyu, H.; Kook, B. A Role for a Menthone Reductase in Resistance against Microbial Pathogens in Plants. *American Society of Plant Biologists*. USA. 2008. pp. 383 – 401.
38. Zhukouskaya, N.; Dikusar, E.; Moiseichuk, K.; Yuglazov, O. Preparative synthesis of menthone oxime esters. *Russian Journal of Applied Chemistry*. Rusia. 2006. pp. 634 – 636.

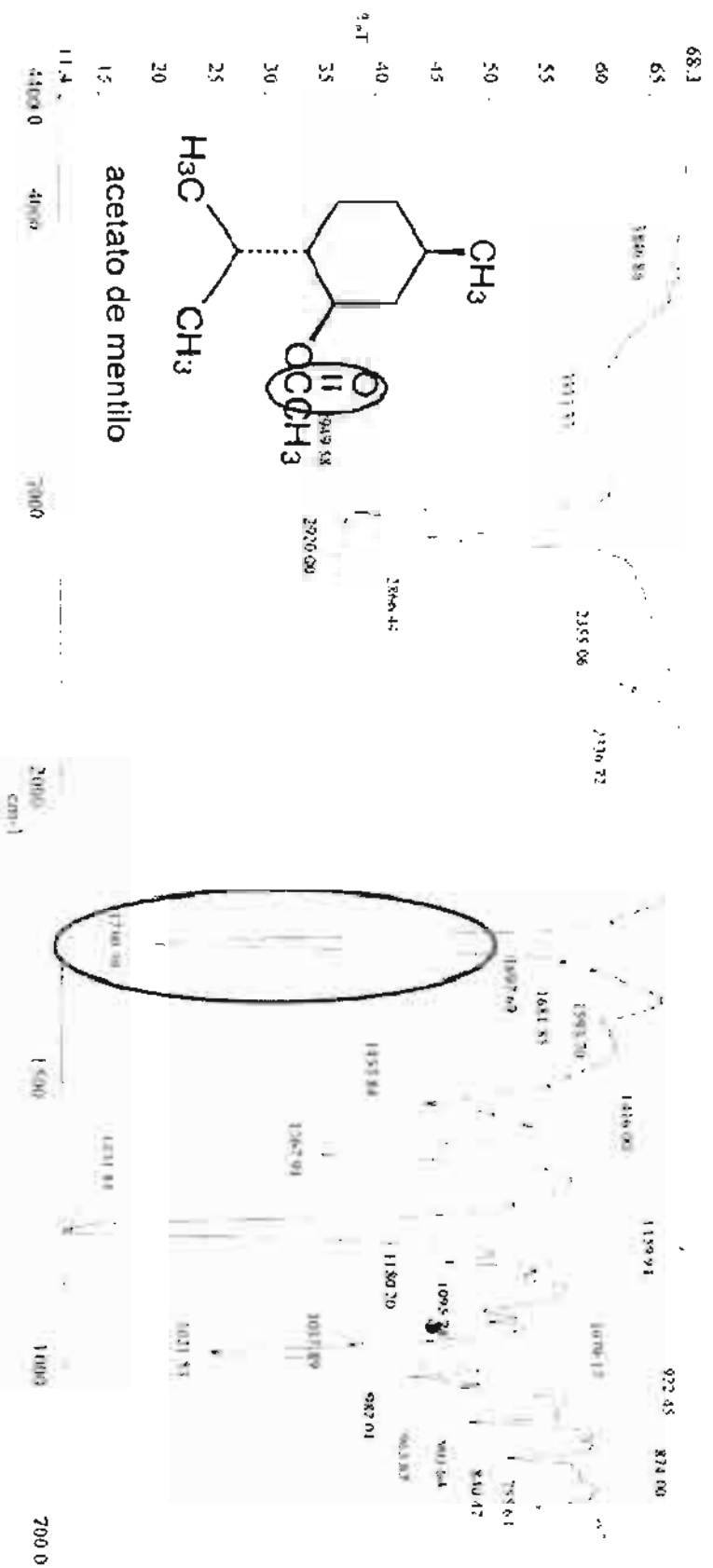


# 14. ANEXO 1 Espectros de IR, RMN <sup>1</sup>H y RMN <sup>13</sup>C de los derivados de mentol y mentona

## 14.1 Acetato de Mentilo

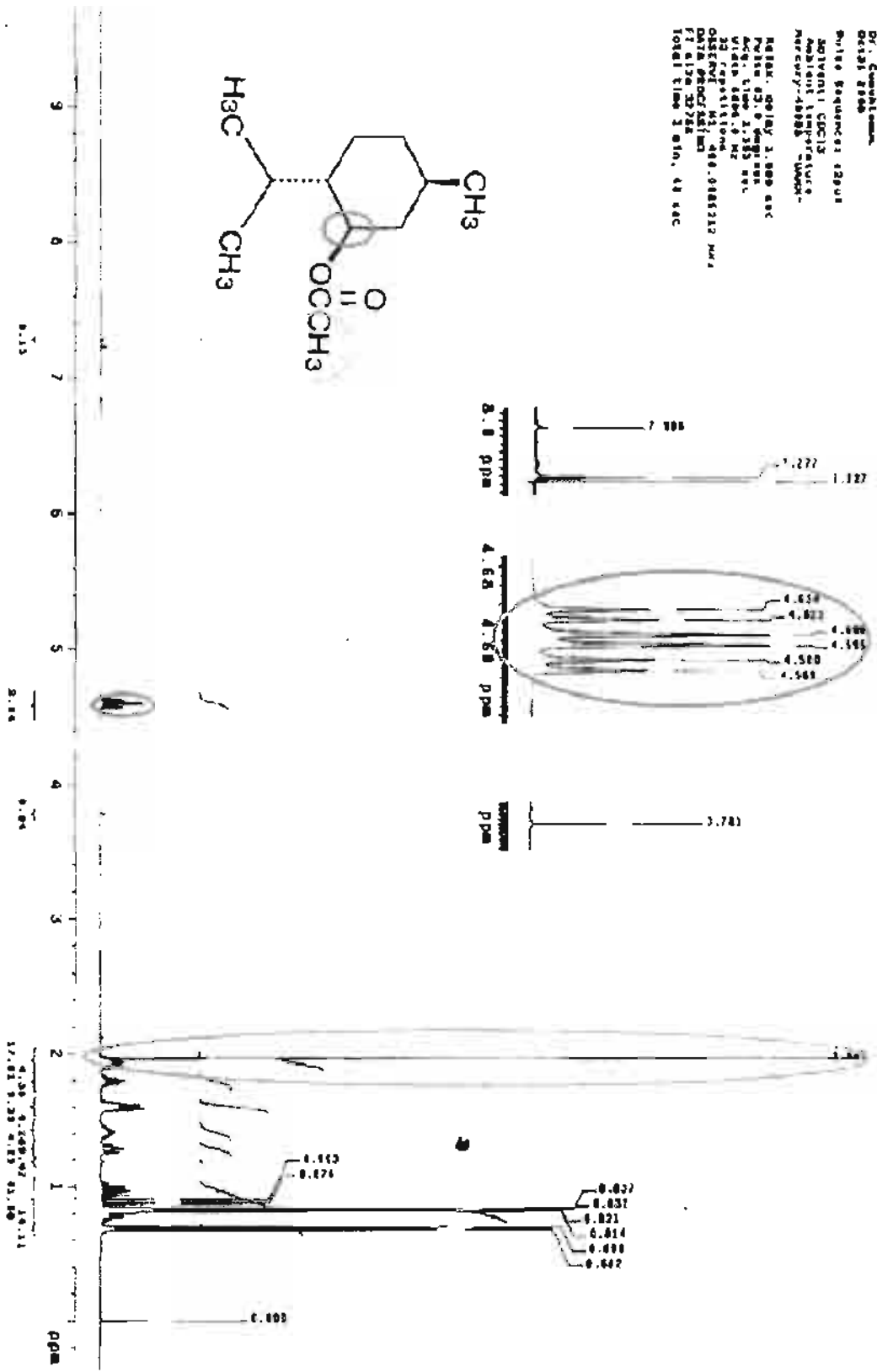
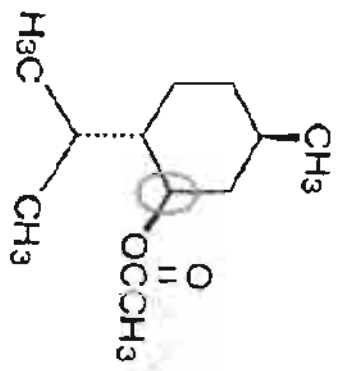
Infrarrojo

Date: 13/11/2008



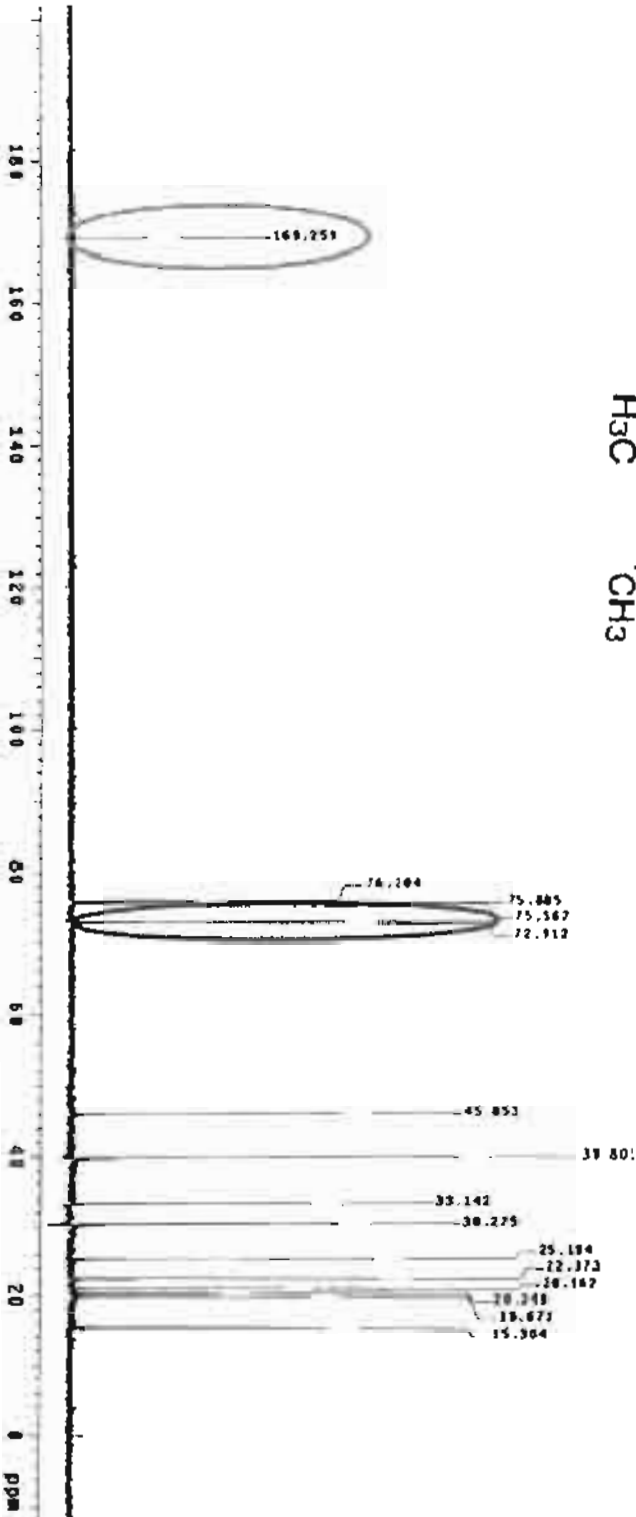
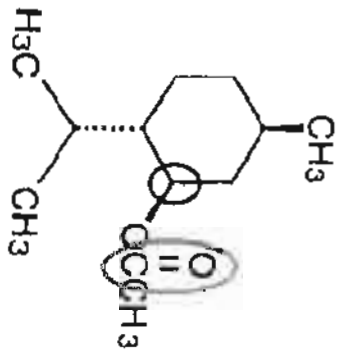
RMN H<sup>1</sup>

UNIV-  
 NMR DEPARTMENT 88  
 Dr. Constantin  
 Oct 28 1988  
 Pulse Sequence: 12901  
 SOLVENT: CDCl<sub>3</sub>  
 Name: 1,3-dimethyl-4-isobutyryl-6-methylpiperidine  
 Ref: 43  
 P1: 1.30  
 P2: 1.30  
 P3: 1.30  
 P4: 1.30  
 P5: 1.30  
 P6: 1.30  
 P7: 1.30  
 P8: 1.30  
 P9: 1.30  
 P10: 1.30  
 P11: 1.30  
 P12: 1.30  
 P13: 1.30  
 P14: 1.30  
 P15: 1.30  
 P16: 1.30  
 P17: 1.30  
 P18: 1.30  
 P19: 1.30  
 P20: 1.30  
 P21: 1.30  
 P22: 1.30  
 P23: 1.30  
 P24: 1.30  
 P25: 1.30  
 P26: 1.30  
 P27: 1.30  
 P28: 1.30  
 P29: 1.30  
 P30: 1.30  
 P31: 1.30  
 P32: 1.30  
 P33: 1.30  
 P34: 1.30  
 P35: 1.30  
 P36: 1.30  
 P37: 1.30  
 P38: 1.30  
 P39: 1.30  
 P40: 1.30  
 P41: 1.30  
 P42: 1.30  
 P43: 1.30  
 P44: 1.30  
 P45: 1.30  
 P46: 1.30  
 P47: 1.30  
 P48: 1.30  
 P49: 1.30  
 P50: 1.30  
 P51: 1.30  
 P52: 1.30  
 P53: 1.30  
 P54: 1.30  
 P55: 1.30  
 P56: 1.30  
 P57: 1.30  
 P58: 1.30  
 P59: 1.30  
 P60: 1.30  
 P61: 1.30  
 P62: 1.30  
 P63: 1.30  
 P64: 1.30  
 P65: 1.30  
 P66: 1.30  
 P67: 1.30  
 P68: 1.30  
 P69: 1.30  
 P70: 1.30  
 P71: 1.30  
 P72: 1.30  
 P73: 1.30  
 P74: 1.30  
 P75: 1.30  
 P76: 1.30  
 P77: 1.30  
 P78: 1.30  
 P79: 1.30  
 P80: 1.30  
 P81: 1.30  
 P82: 1.30  
 P83: 1.30  
 P84: 1.30  
 P85: 1.30  
 P86: 1.30  
 P87: 1.30  
 P88: 1.30  
 P89: 1.30  
 P90: 1.30  
 P91: 1.30  
 P92: 1.30  
 P93: 1.30  
 P94: 1.30  
 P95: 1.30  
 P96: 1.30  
 P97: 1.30  
 P98: 1.30  
 P99: 1.30  
 P100: 1.30  
 Total time: 1.010, 43 sec



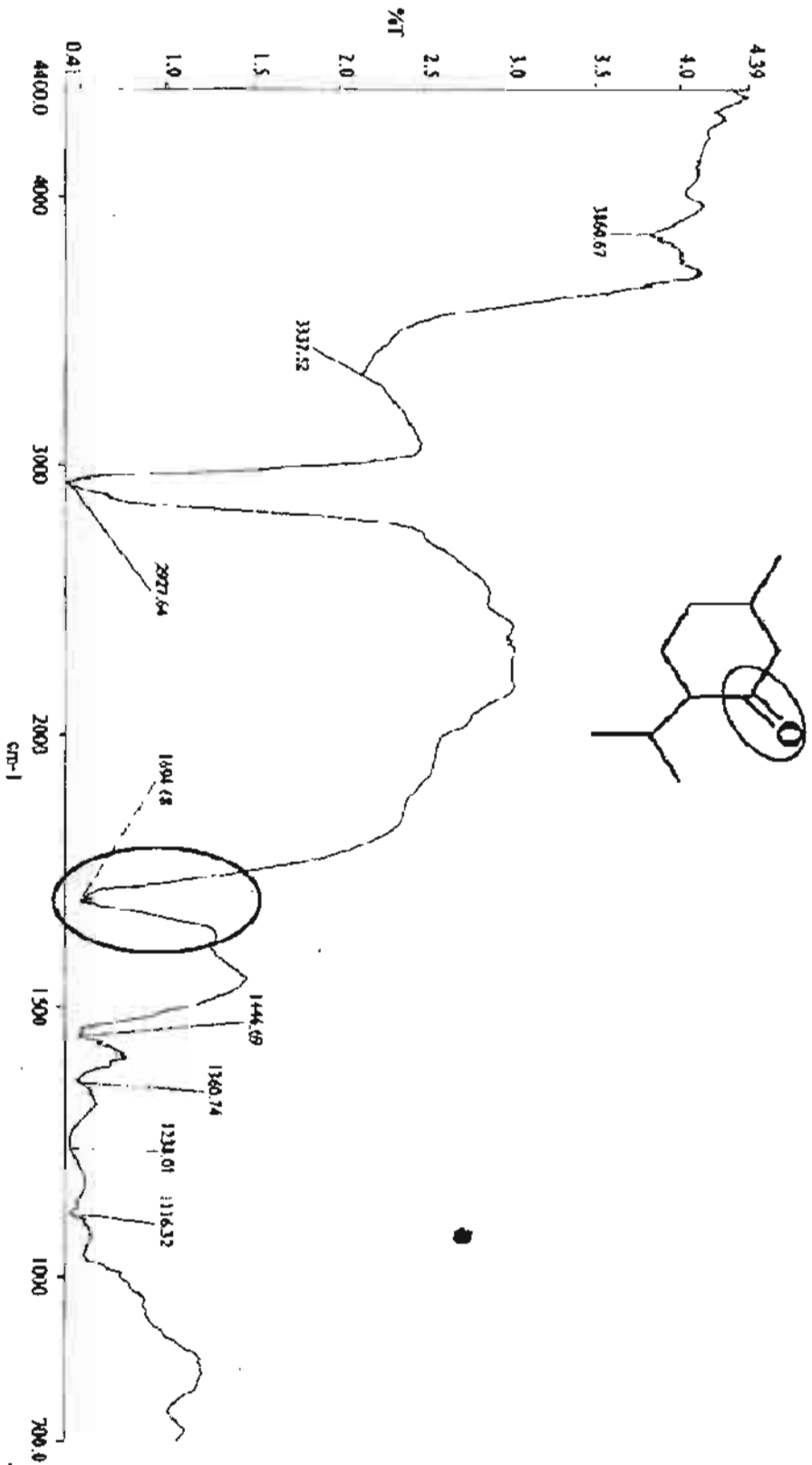
RMN C<sup>13</sup>

NUM-X  
 Nom: ed mentho ST  
 Date: 01/08/01  
 RC: 01 2000  
 Pulse Sequence: zgpg30  
 Solvent: CDCl<sub>3</sub>  
 Ambient Temperature: mercury: 00000 "none"  
 Relax: delay 0.500 sec  
 Pulse: 28.1440000  
 Acq. time: 0.500 sec  
 Width: 23888.8 Hz  
 128 F repetitions  
 OBSERVE: C13 140.8048190 MHz  
 PCOUNT: 01 480.1005818 MHz  
 Power: 49 dB  
 Continuity: on  
 WAIT: 10 seconds  
 DATA PROCESSING  
 F1: 0.0000000 1.0 MHz  
 F2: 0.0000000 1.0 MHz  
 Total time in air: 38 sec



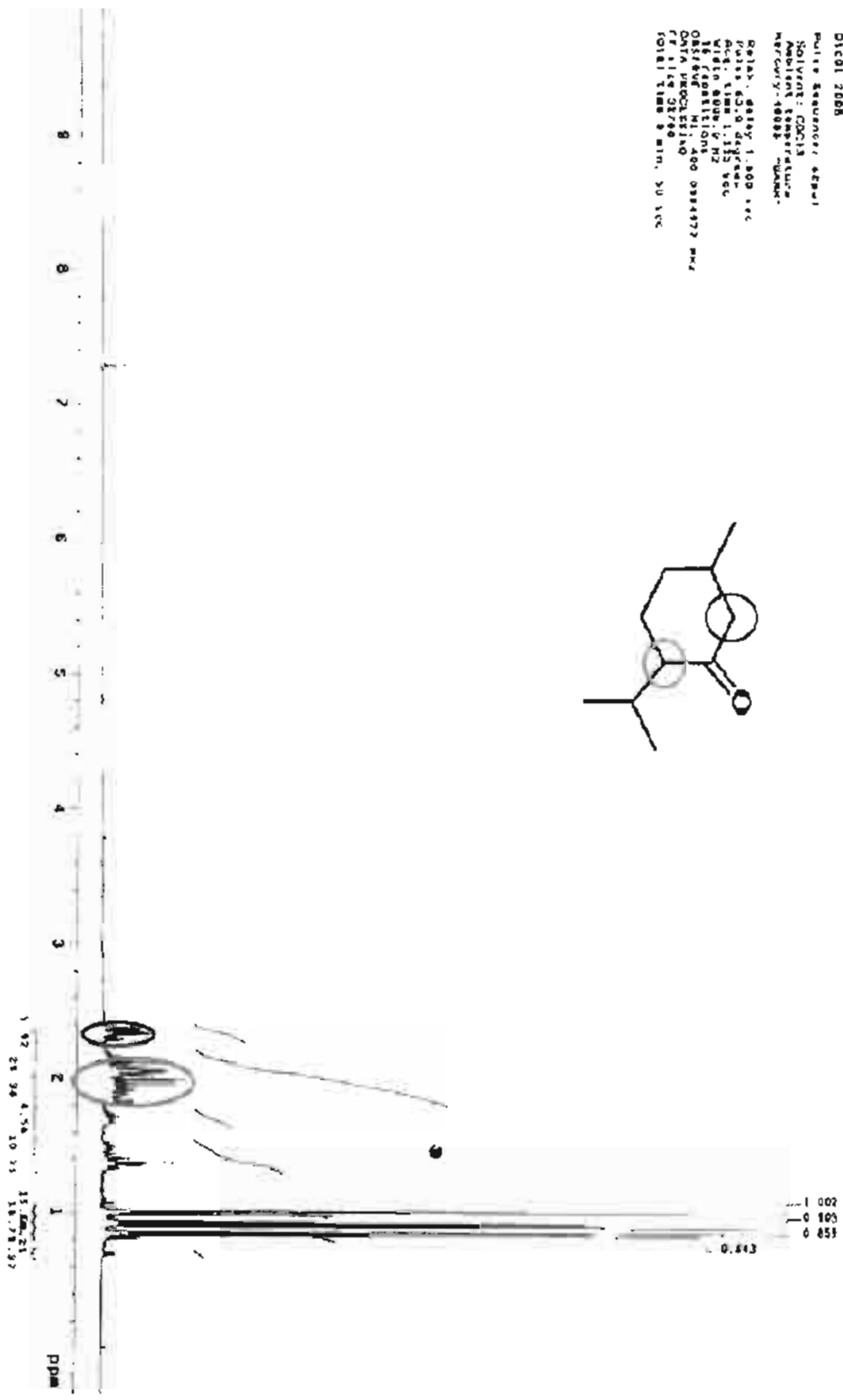
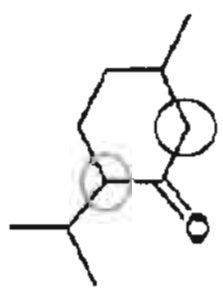
14.2 Mentona  
Infrarrojo

MENTONA Date: 02/12/2008



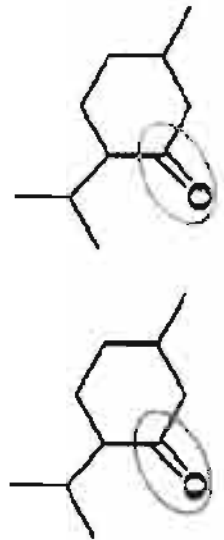
RMN H<sup>1</sup>

U46-1X  
 3-2 Nantona  
 Dr. Salgado  
 Dicol 2008  
 Pulve Sequencer: 480-1  
 SOLVENT: CDCl<sub>3</sub>  
 REAGENT: Spectralum  
 MERCURY-10000 - 100000  
 Solis - delay: 1.800 sec  
 Pulse: 42.0 degrees  
 Acq. time: 1.332 sec  
 Width: 8000.0 Hz  
 16 Scans  
 OMS: 400 MHz  
 OMS: 400 MHz  
 F1: 100 MHz  
 F2: 100 MHz  
 F3: 100 MHz  
 F4: 100 MHz  
 F5: 100 MHz  
 F6: 100 MHz  
 F7: 100 MHz  
 F8: 100 MHz  
 F9: 100 MHz  
 F10: 100 MHz  
 F11: 100 MHz  
 F12: 100 MHz  
 F13: 100 MHz  
 F14: 100 MHz  
 F15: 100 MHz  
 F16: 100 MHz  
 F17: 100 MHz  
 F18: 100 MHz  
 F19: 100 MHz  
 F20: 100 MHz  
 F21: 100 MHz  
 F22: 100 MHz  
 F23: 100 MHz  
 F24: 100 MHz  
 F25: 100 MHz  
 F26: 100 MHz  
 F27: 100 MHz  
 F28: 100 MHz  
 F29: 100 MHz  
 F30: 100 MHz  
 F31: 100 MHz  
 F32: 100 MHz  
 F33: 100 MHz  
 F34: 100 MHz  
 F35: 100 MHz  
 F36: 100 MHz  
 F37: 100 MHz  
 F38: 100 MHz  
 F39: 100 MHz  
 F40: 100 MHz  
 F41: 100 MHz  
 F42: 100 MHz  
 F43: 100 MHz  
 F44: 100 MHz  
 F45: 100 MHz  
 F46: 100 MHz  
 F47: 100 MHz  
 F48: 100 MHz  
 F49: 100 MHz  
 F50: 100 MHz  
 F51: 100 MHz  
 F52: 100 MHz  
 F53: 100 MHz  
 F54: 100 MHz  
 F55: 100 MHz  
 F56: 100 MHz  
 F57: 100 MHz  
 F58: 100 MHz  
 F59: 100 MHz  
 F60: 100 MHz  
 F61: 100 MHz  
 F62: 100 MHz  
 F63: 100 MHz  
 F64: 100 MHz  
 F65: 100 MHz  
 F66: 100 MHz  
 F67: 100 MHz  
 F68: 100 MHz  
 F69: 100 MHz  
 F70: 100 MHz  
 F71: 100 MHz  
 F72: 100 MHz  
 F73: 100 MHz  
 F74: 100 MHz  
 F75: 100 MHz  
 F76: 100 MHz  
 F77: 100 MHz  
 F78: 100 MHz  
 F79: 100 MHz  
 F80: 100 MHz  
 F81: 100 MHz  
 F82: 100 MHz  
 F83: 100 MHz  
 F84: 100 MHz  
 F85: 100 MHz  
 F86: 100 MHz  
 F87: 100 MHz  
 F88: 100 MHz  
 F89: 100 MHz  
 F90: 100 MHz  
 F91: 100 MHz  
 F92: 100 MHz  
 F93: 100 MHz  
 F94: 100 MHz  
 F95: 100 MHz  
 F96: 100 MHz  
 F97: 100 MHz  
 F98: 100 MHz  
 F99: 100 MHz  
 F100: 100 MHz



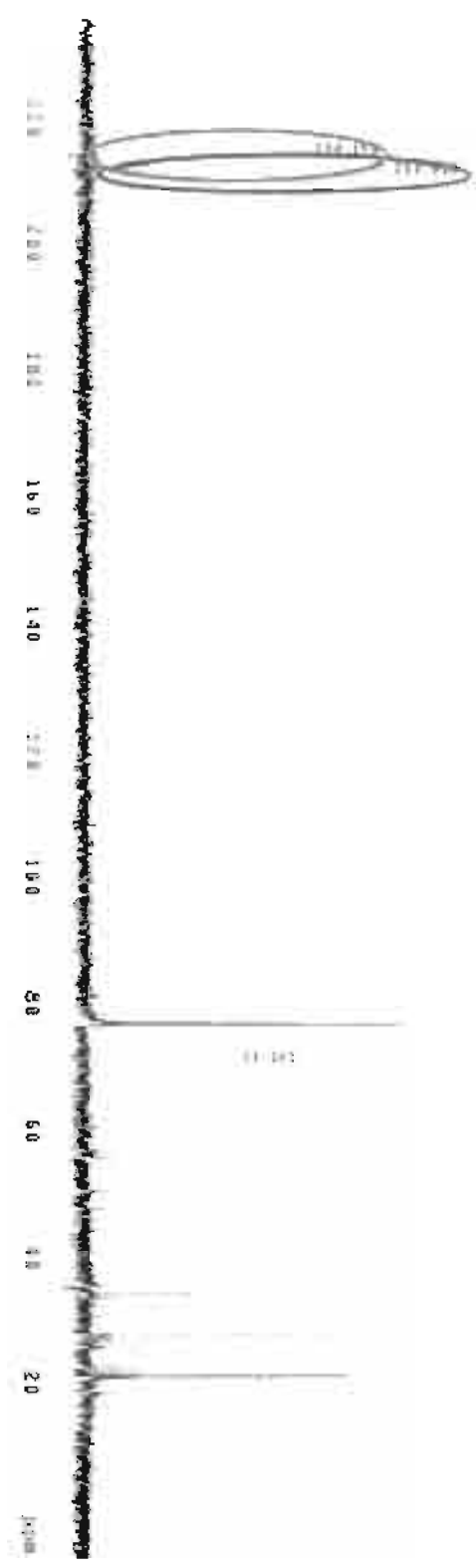
# RMN C<sup>13</sup>

13C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  
 44.0 (s), 43.9 (s), 43.8 (s), 43.7 (s), 43.6 (s), 43.5 (s), 43.4 (s), 43.3 (s), 43.2 (s), 43.1 (s), 43.0 (s), 42.9 (s), 42.8 (s), 42.7 (s), 42.6 (s), 42.5 (s), 42.4 (s), 42.3 (s), 42.2 (s), 42.1 (s), 42.0 (s), 41.9 (s), 41.8 (s), 41.7 (s), 41.6 (s), 41.5 (s), 41.4 (s), 41.3 (s), 41.2 (s), 41.1 (s), 41.0 (s), 40.9 (s), 40.8 (s), 40.7 (s), 40.6 (s), 40.5 (s), 40.4 (s), 40.3 (s), 40.2 (s), 40.1 (s), 40.0 (s), 39.9 (s), 39.8 (s), 39.7 (s), 39.6 (s), 39.5 (s), 39.4 (s), 39.3 (s), 39.2 (s), 39.1 (s), 39.0 (s), 38.9 (s), 38.8 (s), 38.7 (s), 38.6 (s), 38.5 (s), 38.4 (s), 38.3 (s), 38.2 (s), 38.1 (s), 38.0 (s), 37.9 (s), 37.8 (s), 37.7 (s), 37.6 (s), 37.5 (s), 37.4 (s), 37.3 (s), 37.2 (s), 37.1 (s), 37.0 (s), 36.9 (s), 36.8 (s), 36.7 (s), 36.6 (s), 36.5 (s), 36.4 (s), 36.3 (s), 36.2 (s), 36.1 (s), 36.0 (s), 35.9 (s), 35.8 (s), 35.7 (s), 35.6 (s), 35.5 (s), 35.4 (s), 35.3 (s), 35.2 (s), 35.1 (s), 35.0 (s), 34.9 (s), 34.8 (s), 34.7 (s), 34.6 (s), 34.5 (s), 34.4 (s), 34.3 (s), 34.2 (s), 34.1 (s), 34.0 (s), 33.9 (s), 33.8 (s), 33.7 (s), 33.6 (s), 33.5 (s), 33.4 (s), 33.3 (s), 33.2 (s), 33.1 (s), 33.0 (s), 32.9 (s), 32.8 (s), 32.7 (s), 32.6 (s), 32.5 (s), 32.4 (s), 32.3 (s), 32.2 (s), 32.1 (s), 32.0 (s), 31.9 (s), 31.8 (s), 31.7 (s), 31.6 (s), 31.5 (s), 31.4 (s), 31.3 (s), 31.2 (s), 31.1 (s), 31.0 (s), 30.9 (s), 30.8 (s), 30.7 (s), 30.6 (s), 30.5 (s), 30.4 (s), 30.3 (s), 30.2 (s), 30.1 (s), 30.0 (s), 29.9 (s), 29.8 (s), 29.7 (s), 29.6 (s), 29.5 (s), 29.4 (s), 29.3 (s), 29.2 (s), 29.1 (s), 29.0 (s), 28.9 (s), 28.8 (s), 28.7 (s), 28.6 (s), 28.5 (s), 28.4 (s), 28.3 (s), 28.2 (s), 28.1 (s), 28.0 (s), 27.9 (s), 27.8 (s), 27.7 (s), 27.6 (s), 27.5 (s), 27.4 (s), 27.3 (s), 27.2 (s), 27.1 (s), 27.0 (s), 26.9 (s), 26.8 (s), 26.7 (s), 26.6 (s), 26.5 (s), 26.4 (s), 26.3 (s), 26.2 (s), 26.1 (s), 26.0 (s), 25.9 (s), 25.8 (s), 25.7 (s), 25.6 (s), 25.5 (s), 25.4 (s), 25.3 (s), 25.2 (s), 25.1 (s), 25.0 (s), 24.9 (s), 24.8 (s), 24.7 (s), 24.6 (s), 24.5 (s), 24.4 (s), 24.3 (s), 24.2 (s), 24.1 (s), 24.0 (s), 23.9 (s), 23.8 (s), 23.7 (s), 23.6 (s), 23.5 (s), 23.4 (s), 23.3 (s), 23.2 (s), 23.1 (s), 23.0 (s), 22.9 (s), 22.8 (s), 22.7 (s), 22.6 (s), 22.5 (s), 22.4 (s), 22.3 (s), 22.2 (s), 22.1 (s), 22.0 (s), 21.9 (s), 21.8 (s), 21.7 (s), 21.6 (s), 21.5 (s), 21.4 (s), 21.3 (s), 21.2 (s), 21.1 (s), 21.0 (s), 20.9 (s), 20.8 (s), 20.7 (s), 20.6 (s), 20.5 (s), 20.4 (s), 20.3 (s), 20.2 (s), 20.1 (s), 20.0 (s), 19.9 (s), 19.8 (s), 19.7 (s), 19.6 (s), 19.5 (s), 19.4 (s), 19.3 (s), 19.2 (s), 19.1 (s), 19.0 (s), 18.9 (s), 18.8 (s), 18.7 (s), 18.6 (s), 18.5 (s), 18.4 (s), 18.3 (s), 18.2 (s), 18.1 (s), 18.0 (s), 17.9 (s), 17.8 (s), 17.7 (s), 17.6 (s), 17.5 (s), 17.4 (s), 17.3 (s), 17.2 (s), 17.1 (s), 17.0 (s), 16.9 (s), 16.8 (s), 16.7 (s), 16.6 (s), 16.5 (s), 16.4 (s), 16.3 (s), 16.2 (s), 16.1 (s), 16.0 (s), 15.9 (s), 15.8 (s), 15.7 (s), 15.6 (s), 15.5 (s), 15.4 (s), 15.3 (s), 15.2 (s), 15.1 (s), 15.0 (s), 14.9 (s), 14.8 (s), 14.7 (s), 14.6 (s), 14.5 (s), 14.4 (s), 14.3 (s), 14.2 (s), 14.1 (s), 14.0 (s), 13.9 (s), 13.8 (s), 13.7 (s), 13.6 (s), 13.5 (s), 13.4 (s), 13.3 (s), 13.2 (s), 13.1 (s), 13.0 (s), 12.9 (s), 12.8 (s), 12.7 (s), 12.6 (s), 12.5 (s), 12.4 (s), 12.3 (s), 12.2 (s), 12.1 (s), 12.0 (s), 11.9 (s), 11.8 (s), 11.7 (s), 11.6 (s), 11.5 (s), 11.4 (s), 11.3 (s), 11.2 (s), 11.1 (s), 11.0 (s), 10.9 (s), 10.8 (s), 10.7 (s), 10.6 (s), 10.5 (s), 10.4 (s), 10.3 (s), 10.2 (s), 10.1 (s), 10.0 (s), 9.9 (s), 9.8 (s), 9.7 (s), 9.6 (s), 9.5 (s), 9.4 (s), 9.3 (s), 9.2 (s), 9.1 (s), 9.0 (s), 8.9 (s), 8.8 (s), 8.7 (s), 8.6 (s), 8.5 (s), 8.4 (s), 8.3 (s), 8.2 (s), 8.1 (s), 8.0 (s), 7.9 (s), 7.8 (s), 7.7 (s), 7.6 (s), 7.5 (s), 7.4 (s), 7.3 (s), 7.2 (s), 7.1 (s), 7.0 (s), 6.9 (s), 6.8 (s), 6.7 (s), 6.6 (s), 6.5 (s), 6.4 (s), 6.3 (s), 6.2 (s), 6.1 (s), 6.0 (s), 5.9 (s), 5.8 (s), 5.7 (s), 5.6 (s), 5.5 (s), 5.4 (s), 5.3 (s), 5.2 (s), 5.1 (s), 5.0 (s), 4.9 (s), 4.8 (s), 4.7 (s), 4.6 (s), 4.5 (s), 4.4 (s), 4.3 (s), 4.2 (s), 4.1 (s), 4.0 (s), 3.9 (s), 3.8 (s), 3.7 (s), 3.6 (s), 3.5 (s), 3.4 (s), 3.3 (s), 3.2 (s), 3.1 (s), 3.0 (s), 2.9 (s), 2.8 (s), 2.7 (s), 2.6 (s), 2.5 (s), 2.4 (s), 2.3 (s), 2.2 (s), 2.1 (s), 2.0 (s), 1.9 (s), 1.8 (s), 1.7 (s), 1.6 (s), 1.5 (s), 1.4 (s), 1.3 (s), 1.2 (s), 1.1 (s), 1.0 (s), 0.9 (s), 0.8 (s), 0.7 (s), 0.6 (s), 0.5 (s), 0.4 (s), 0.3 (s), 0.2 (s), 0.1 (s), 0.0 (s).



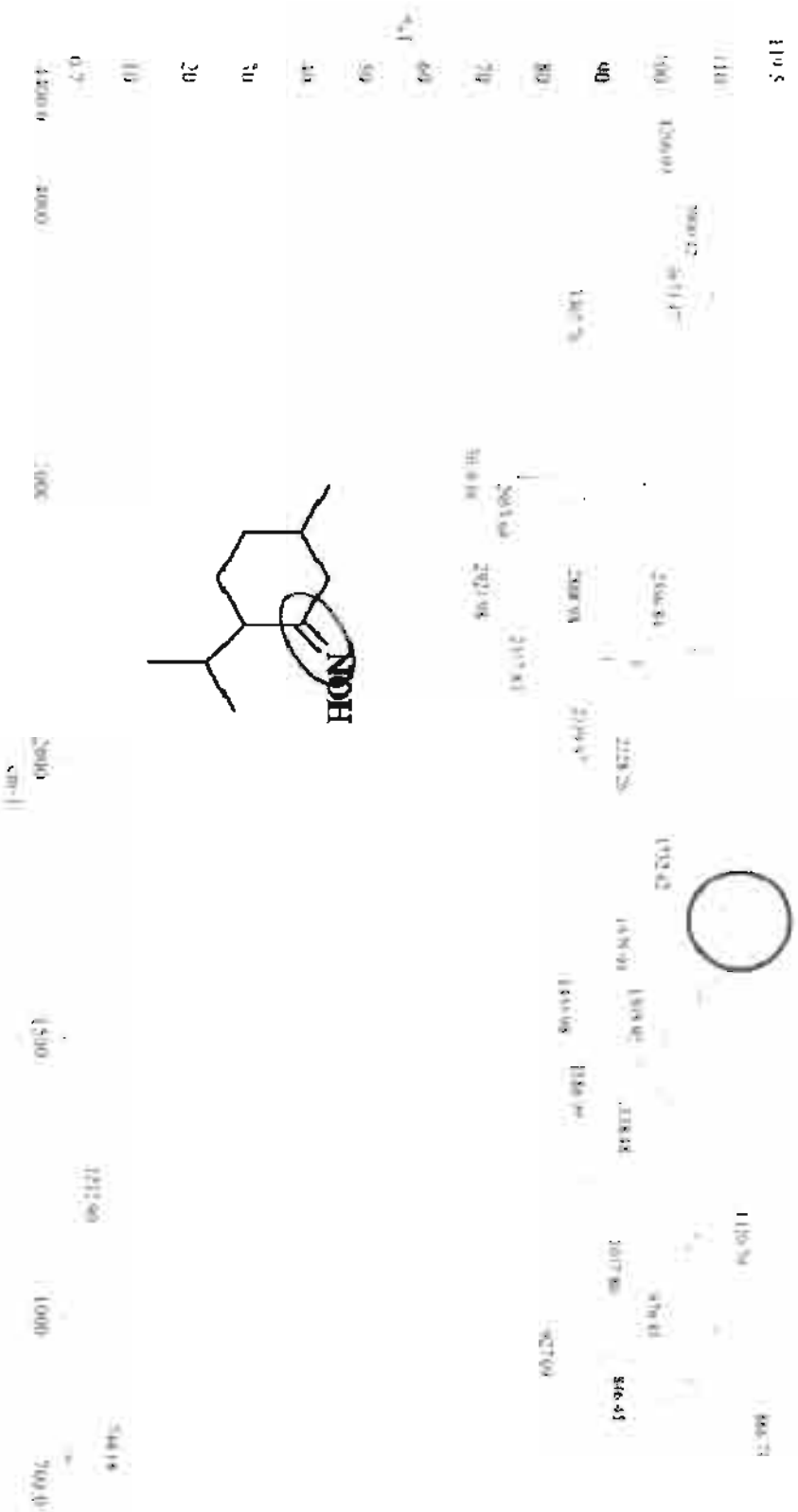
209.1

15.0, 14.9, 14.8, 14.7, 14.6, 14.5, 14.4, 14.3, 14.2, 14.1, 14.0, 13.9, 13.8, 13.7, 13.6, 13.5, 13.4, 13.3, 13.2, 13.1, 13.0, 12.9, 12.8, 12.7, 12.6, 12.5, 12.4, 12.3, 12.2, 12.1, 12.0, 11.9, 11.8, 11.7, 11.6, 11.5, 11.4, 11.3, 11.2, 11.1, 11.0, 10.9, 10.8, 10.7, 10.6, 10.5, 10.4, 10.3, 10.2, 10.1, 10.0, 9.9, 9.8, 9.7, 9.6, 9.5, 9.4, 9.3, 9.2, 9.1, 9.0, 8.9, 8.8, 8.7, 8.6, 8.5, 8.4, 8.3, 8.2, 8.1, 8.0, 7.9, 7.8, 7.7, 7.6, 7.5, 7.4, 7.3, 7.2, 7.1, 7.0, 6.9, 6.8, 6.7, 6.6, 6.5, 6.4, 6.3, 6.2, 6.1, 6.0, 5.9, 5.8, 5.7, 5.6, 5.5, 5.4, 5.3, 5.2, 5.1, 5.0, 4.9, 4.8, 4.7, 4.6, 4.5, 4.4, 4.3, 4.2, 4.1, 4.0, 3.9, 3.8, 3.7, 3.6, 3.5, 3.4, 3.3, 3.2, 3.1, 3.0, 2.9, 2.8, 2.7, 2.6, 2.5, 2.4, 2.3, 2.2, 2.1, 2.0, 1.9, 1.8, 1.7, 1.6, 1.5, 1.4, 1.3, 1.2, 1.1, 1.0, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.0.



### 14.3 Mentona Oxima Infrarrojo

OximD Date: 04/02/2009



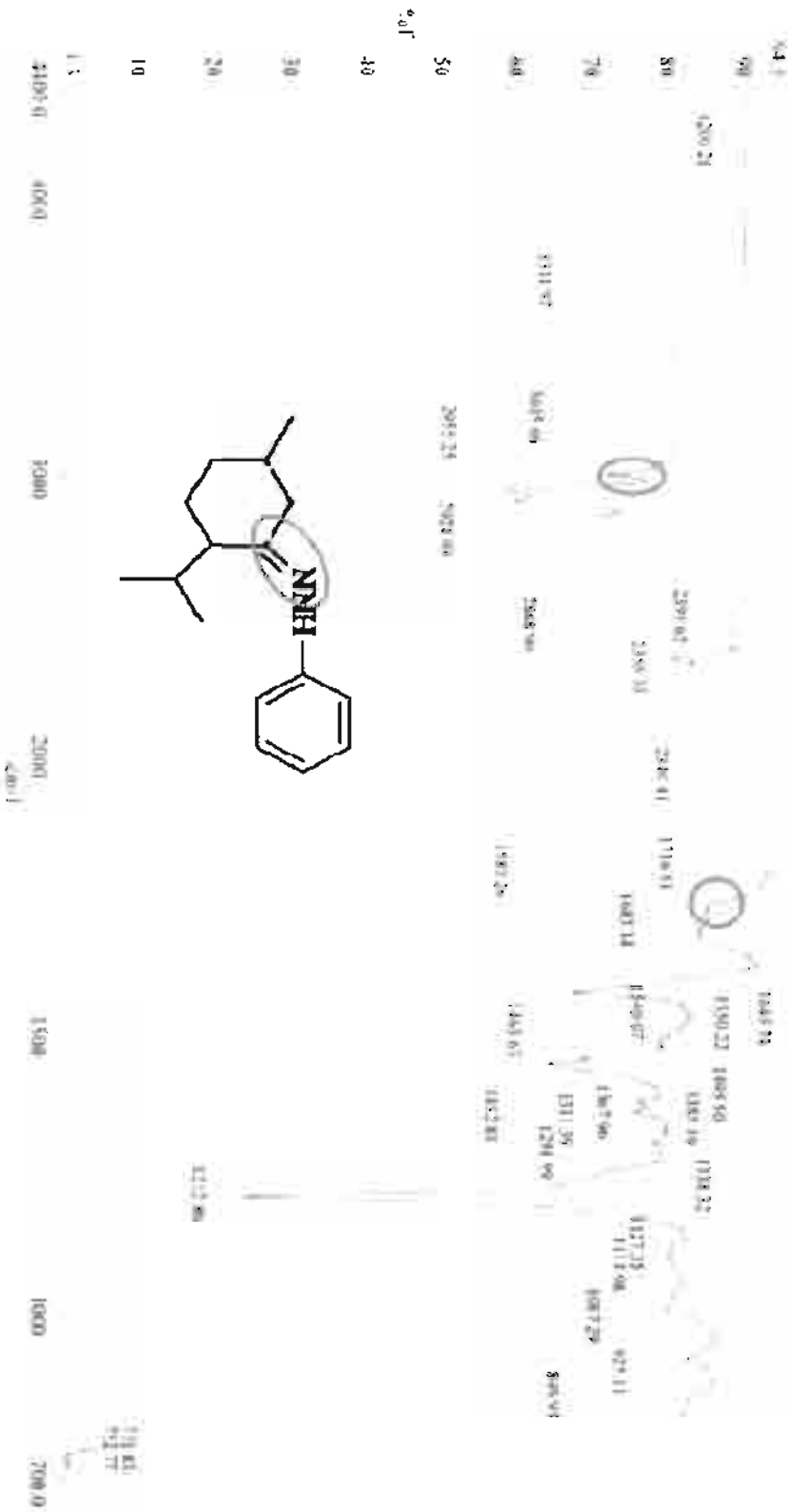






# 14.5 Mentona Fenilhidrazona Infrarrojo

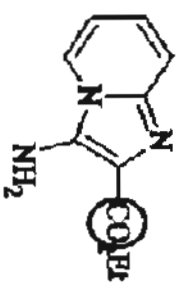
Fenilhidrazona: 04/02/2009





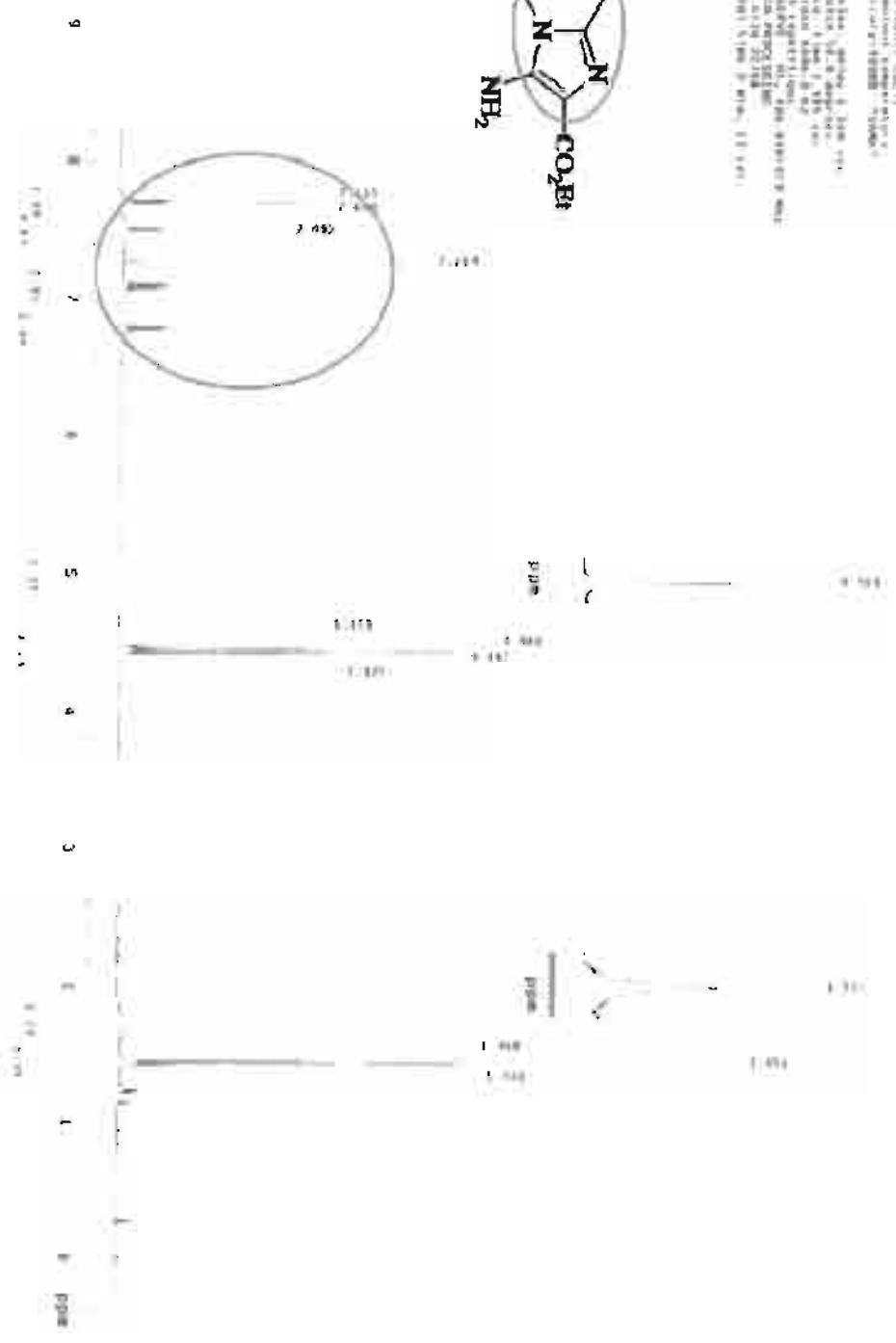
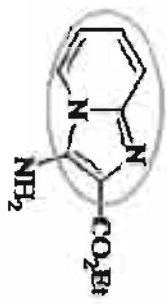


14.7 3-aminoimidazo[1,2-a]piridina-2-carboxilato de etilo  
Infrarrojo



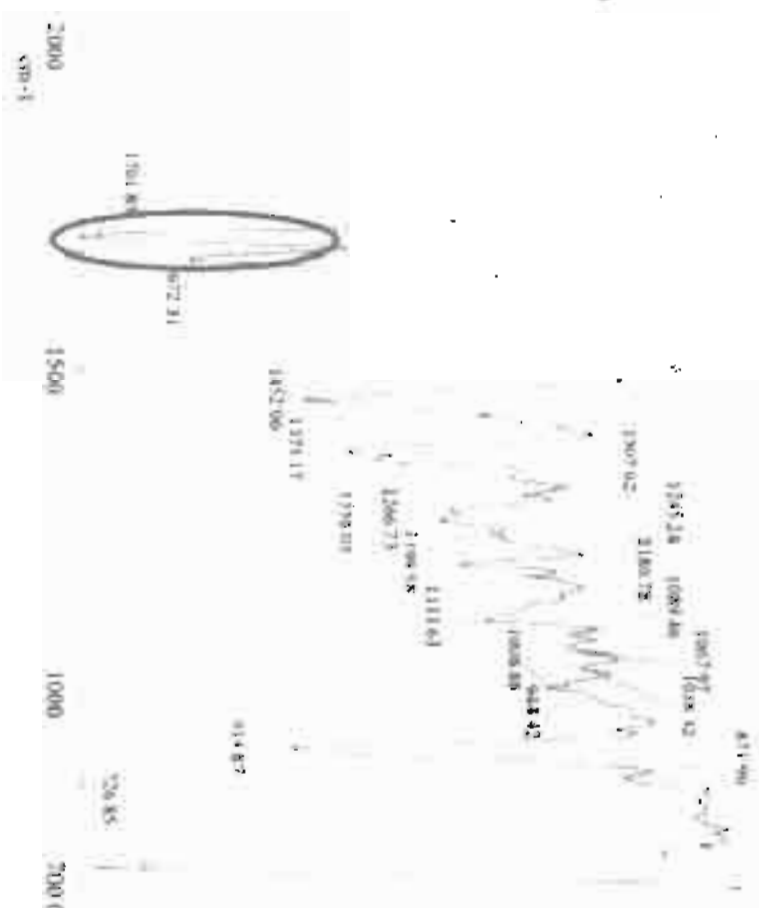
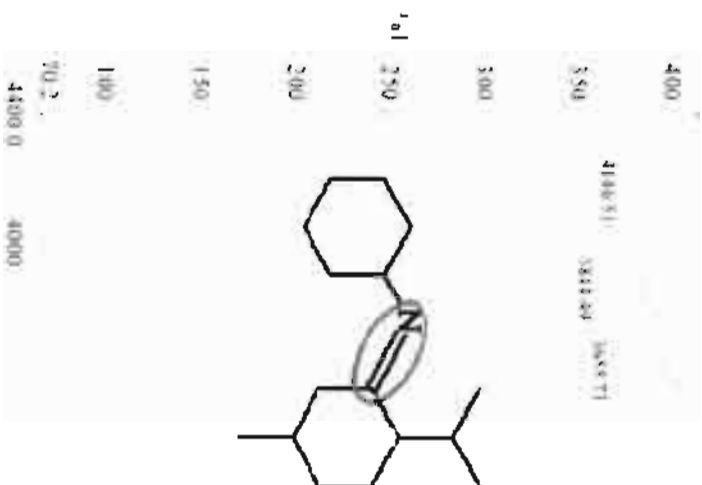
RMN H<sup>1</sup>

Laboratoire de Chimie Organique  
 Université de Bordeaux  
 351 Avenue des Sciences  
 33075 Bordeaux Cedex  
 France  
 Tél. : 33 (0)5 57 12 55 55  
 Fax : 33 (0)5 57 12 55 56  
 E-mail : organo@univ-bordeaux.fr  
 Site web : www.univ-bordeaux.fr/organoc  
 2023



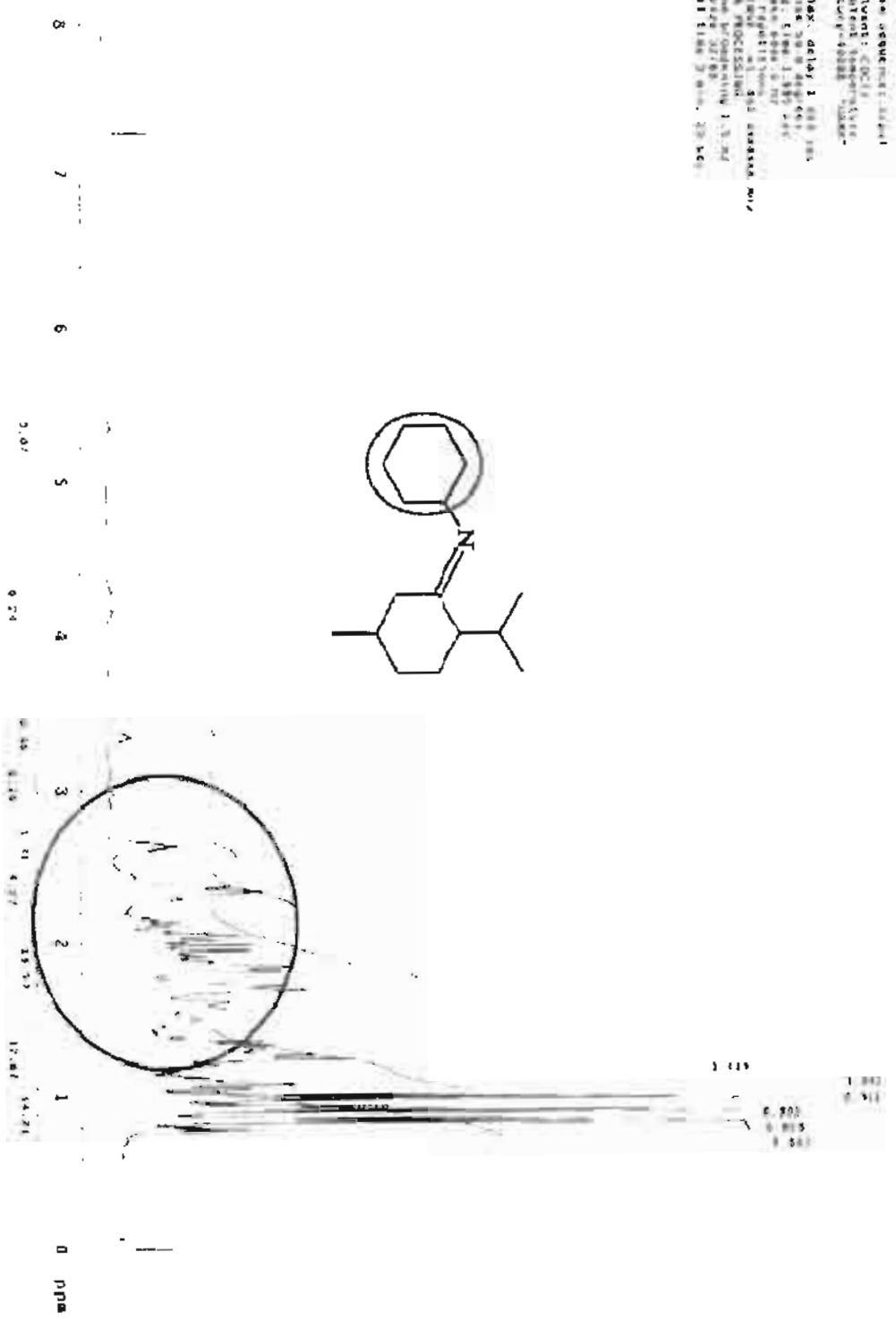
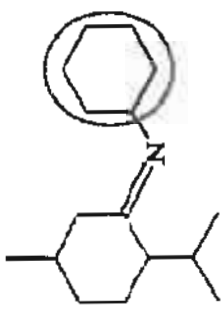
**14.8 Ciclohexilimina de la Mentona**  
**Infarrojo**

**CICLOHEXILIMINA Date: 07/07/09**



RMN H<sup>1</sup>

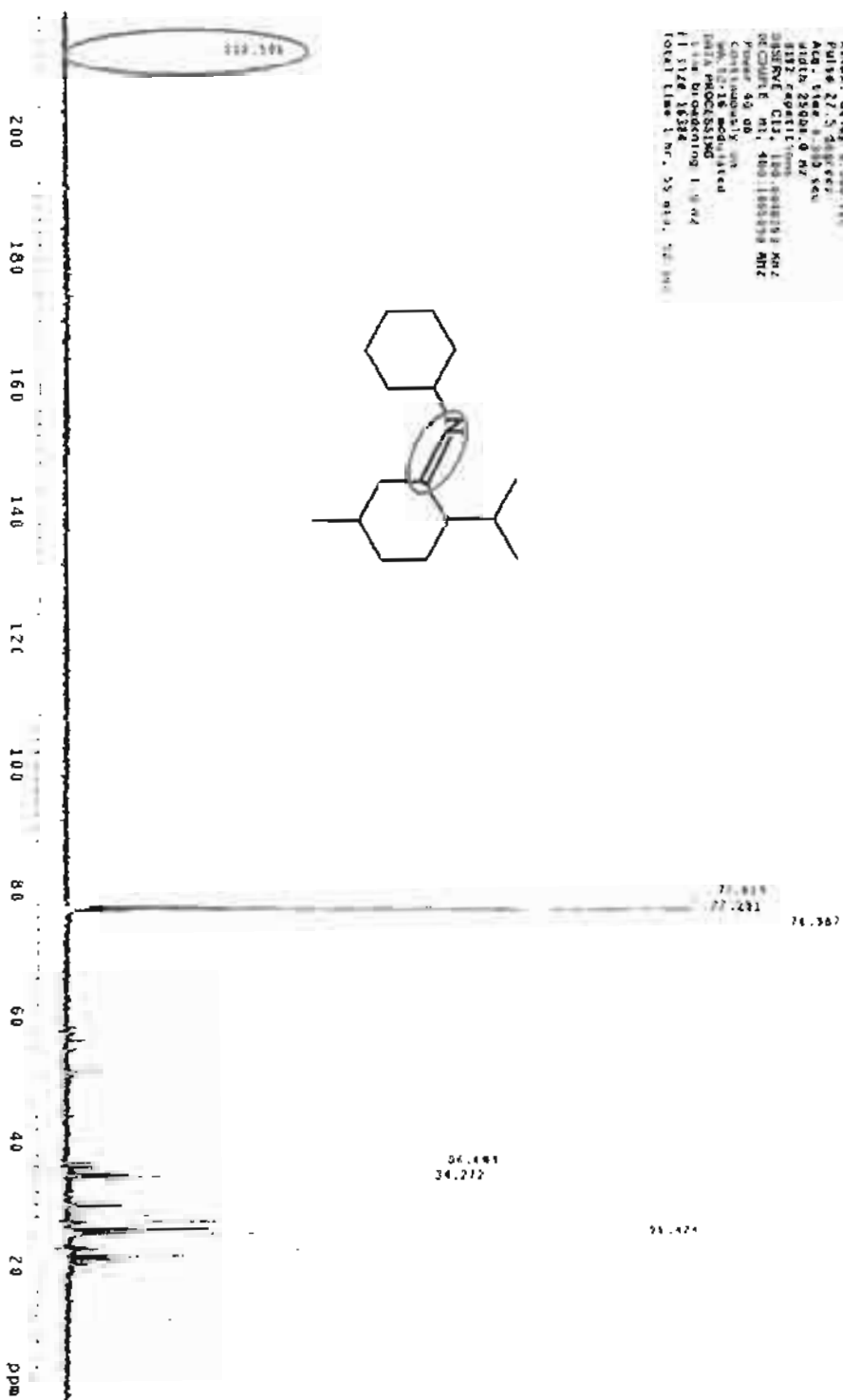
Date: 20/10/2003  
 Exp: 123  
 F1: 400  
 F2: 100  
 F3: 100  
 F4: 100  
 F5: 100  
 F6: 100  
 F7: 100  
 F8: 100  
 F9: 100  
 F10: 100  
 F11: 100  
 F12: 100  
 F13: 100  
 F14: 100  
 F15: 100  
 F16: 100  
 F17: 100  
 F18: 100  
 F19: 100  
 F20: 100  
 F21: 100  
 F22: 100  
 F23: 100  
 F24: 100  
 F25: 100  
 F26: 100  
 F27: 100  
 F28: 100  
 F29: 100  
 F30: 100  
 F31: 100  
 F32: 100  
 F33: 100  
 F34: 100  
 F35: 100  
 F36: 100  
 F37: 100  
 F38: 100  
 F39: 100  
 F40: 100  
 F41: 100  
 F42: 100  
 F43: 100  
 F44: 100  
 F45: 100  
 F46: 100  
 F47: 100  
 F48: 100  
 F49: 100  
 F50: 100  
 F51: 100  
 F52: 100  
 F53: 100  
 F54: 100  
 F55: 100  
 F56: 100  
 F57: 100  
 F58: 100  
 F59: 100  
 F60: 100  
 F61: 100  
 F62: 100  
 F63: 100  
 F64: 100  
 F65: 100  
 F66: 100  
 F67: 100  
 F68: 100  
 F69: 100  
 F70: 100  
 F71: 100  
 F72: 100  
 F73: 100  
 F74: 100  
 F75: 100  
 F76: 100  
 F77: 100  
 F78: 100  
 F79: 100  
 F80: 100  
 F81: 100  
 F82: 100  
 F83: 100  
 F84: 100  
 F85: 100  
 F86: 100  
 F87: 100  
 F88: 100  
 F89: 100  
 F90: 100  
 F91: 100  
 F92: 100  
 F93: 100  
 F94: 100  
 F95: 100  
 F96: 100  
 F97: 100  
 F98: 100  
 F99: 100  
 F100: 100



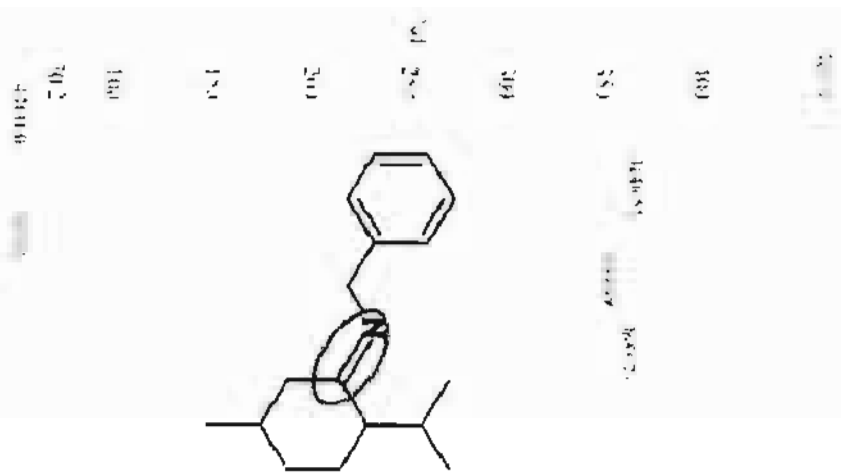


RMN C<sup>13</sup>

-AN-X  
 -C13 NMR  
 Dr. Christophe  
 04/11/2008  
 Pulse Sequence: zgpg30  
 Solvent: CDCl3  
 Acquisition Date: 04/11/2008  
 Acquisition Time: 10:00  
 Reference: 400000000  
 Relax. delay: 8.000 sec  
 F1: 125.761 MHz  
 F2: 125.761 MHz  
 Aq: 250000.00 Hz  
 SFO: 100.628125 MHz  
 NUC1: 13C  
 NUC2: 13C  
 P1: 12.000 sec  
 P2: 12.000 sec  
 P3: 12.000 sec  
 P4: 12.000 sec  
 P5: 12.000 sec  
 P6: 12.000 sec  
 P7: 12.000 sec  
 P8: 12.000 sec  
 P9: 12.000 sec  
 P10: 12.000 sec  
 P11: 12.000 sec  
 P12: 12.000 sec  
 P13: 12.000 sec  
 P14: 12.000 sec  
 P15: 12.000 sec  
 P16: 12.000 sec  
 P17: 12.000 sec  
 P18: 12.000 sec  
 P19: 12.000 sec  
 P20: 12.000 sec  
 P21: 12.000 sec  
 P22: 12.000 sec  
 P23: 12.000 sec  
 P24: 12.000 sec  
 P25: 12.000 sec  
 P26: 12.000 sec  
 P27: 12.000 sec  
 P28: 12.000 sec  
 P29: 12.000 sec  
 P30: 12.000 sec  
 P31: 12.000 sec  
 P32: 12.000 sec  
 P33: 12.000 sec  
 P34: 12.000 sec  
 P35: 12.000 sec  
 P36: 12.000 sec  
 P37: 12.000 sec  
 P38: 12.000 sec  
 P39: 12.000 sec  
 P40: 12.000 sec  
 P41: 12.000 sec  
 P42: 12.000 sec  
 P43: 12.000 sec  
 P44: 12.000 sec  
 P45: 12.000 sec  
 P46: 12.000 sec  
 P47: 12.000 sec  
 P48: 12.000 sec  
 P49: 12.000 sec  
 P50: 12.000 sec  
 P51: 12.000 sec  
 P52: 12.000 sec  
 P53: 12.000 sec  
 P54: 12.000 sec  
 P55: 12.000 sec  
 P56: 12.000 sec  
 P57: 12.000 sec  
 P58: 12.000 sec  
 P59: 12.000 sec  
 P60: 12.000 sec  
 P61: 12.000 sec  
 P62: 12.000 sec  
 P63: 12.000 sec  
 P64: 12.000 sec  
 P65: 12.000 sec  
 P66: 12.000 sec  
 P67: 12.000 sec  
 P68: 12.000 sec  
 P69: 12.000 sec  
 P70: 12.000 sec  
 P71: 12.000 sec  
 P72: 12.000 sec  
 P73: 12.000 sec  
 P74: 12.000 sec  
 P75: 12.000 sec  
 P76: 12.000 sec  
 P77: 12.000 sec  
 P78: 12.000 sec  
 P79: 12.000 sec  
 P80: 12.000 sec  
 P81: 12.000 sec  
 P82: 12.000 sec  
 P83: 12.000 sec  
 P84: 12.000 sec  
 P85: 12.000 sec  
 P86: 12.000 sec  
 P87: 12.000 sec  
 P88: 12.000 sec  
 P89: 12.000 sec  
 P90: 12.000 sec  
 P91: 12.000 sec  
 P92: 12.000 sec  
 P93: 12.000 sec  
 P94: 12.000 sec  
 P95: 12.000 sec  
 P96: 12.000 sec  
 P97: 12.000 sec  
 P98: 12.000 sec  
 P99: 12.000 sec  
 P100: 12.000 sec  
 Total time: 1 hr. 35 min. 32.000 sec

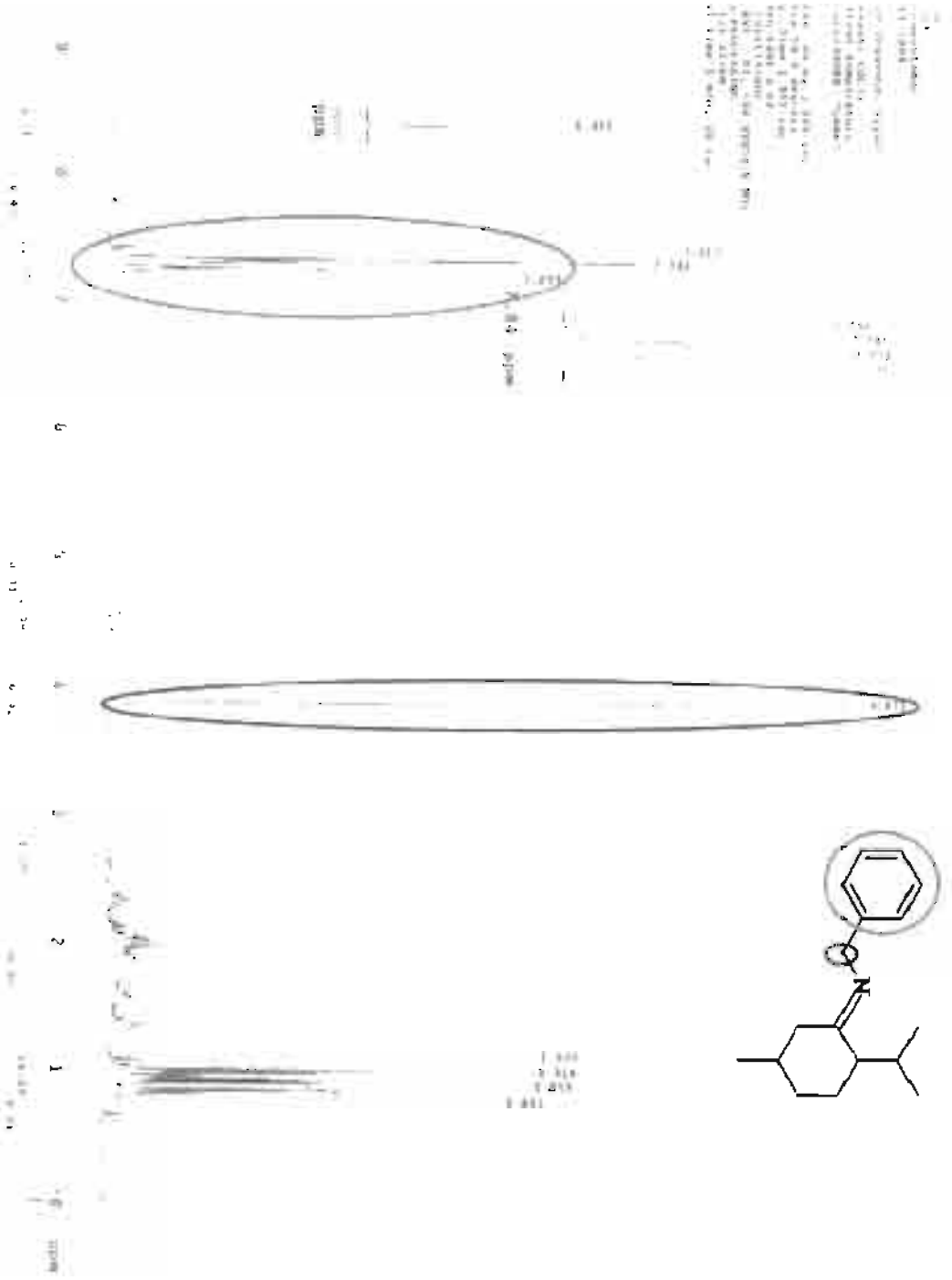


**14.9 Bencilimina de la Mentona**  
**Infrarrojo**



BENCILIMINA Date: 14/07/09

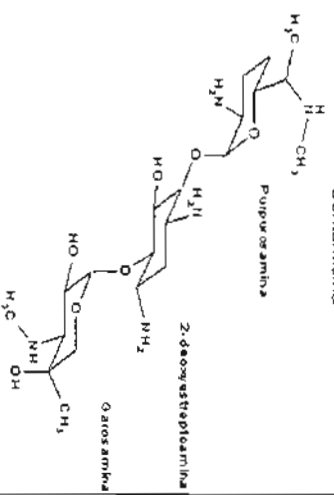
RMN H<sup>1</sup>

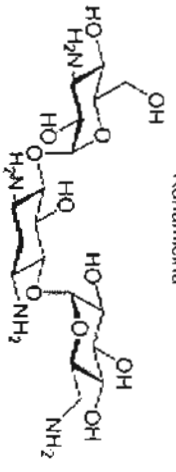
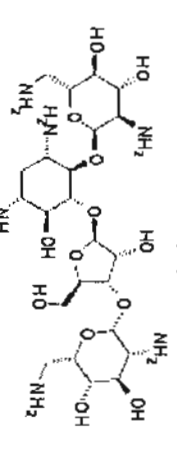
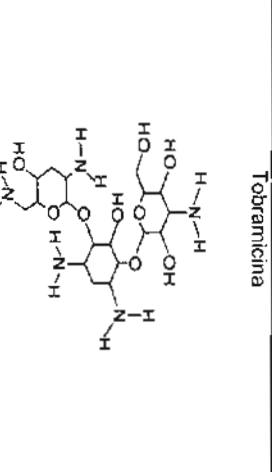
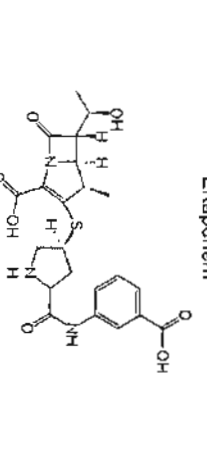
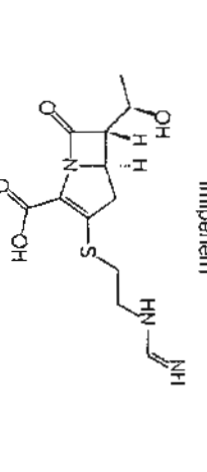


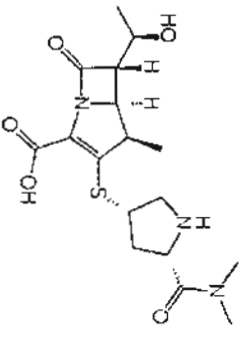
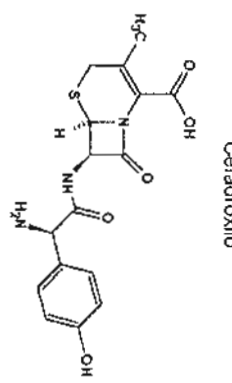
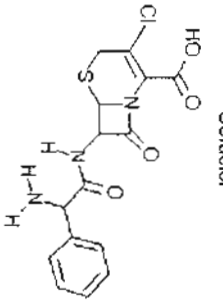
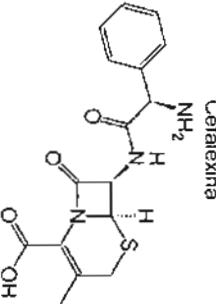
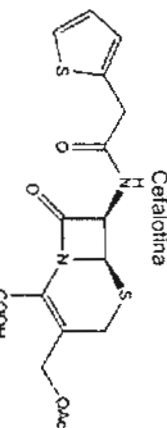


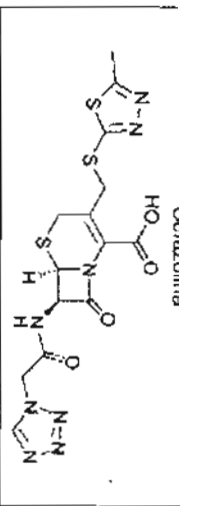
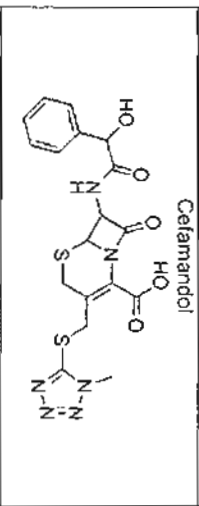
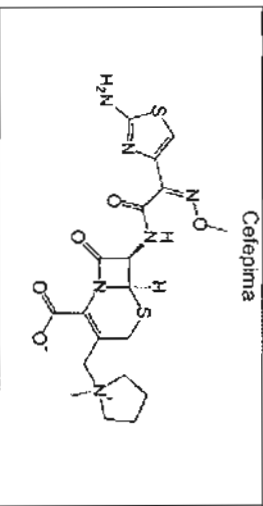
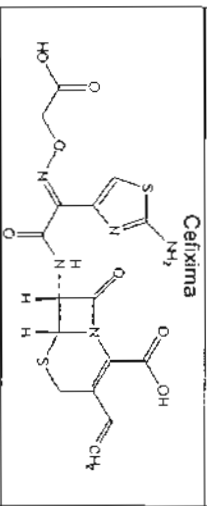
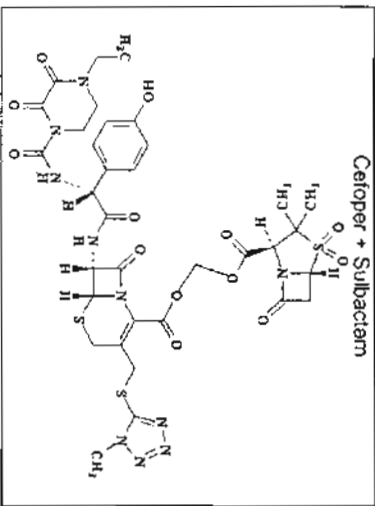
# 1 por stappny

FARMACO	CME	OTRAS BACTERIAS	MODIFICACIONES A LA ESTRUCTURA	MECANISMO DE ACCIÓN
<b>AMINOGLUCÓSIDOS</b>				
Amikacina	30 µg	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Enterobacter</i>	Poseen dos o tres aminoazúcares ligados por un puente glicosídico a un núcleo central de hexosa (aminocitolol).	Se unen a la unidad 30S de los ribosomas, lo que interfiere con el proceso de crecimiento de las bacterias y, así, elimina células bacterianas.  Por lo que se tenderían a clasificarse como bacteriostáticos, pero su efecto es tan potente y de forma irreversible en la subunidad 30S, que son considerados como bactericidas.
Estreptomina	10 µg 300 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	En el caso de la estreptomina el núcleo es la estreptidina, el resto de los medicamentos de este grupo tiene un núcleo de 2-desoxiestreptamina.	
Gentamicina	10 µg 120 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	Al anillo aminocitolol se unen por enlaces glucosídicos dos o más azúcares con grupos amino o sin ellos.	

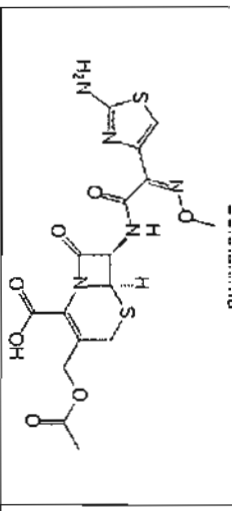
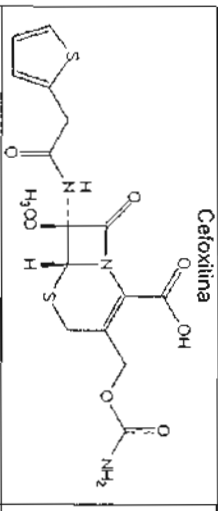
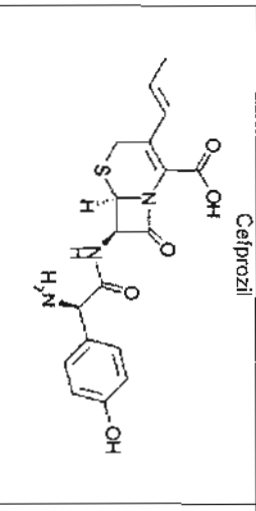
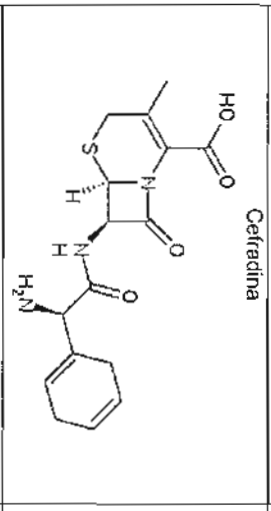
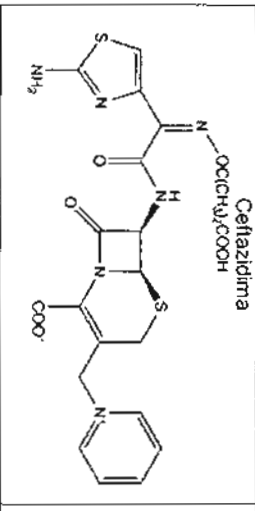


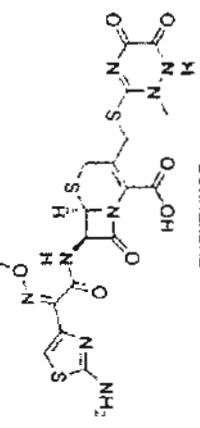
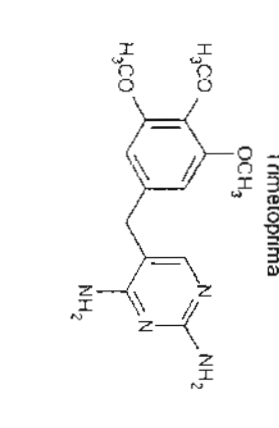
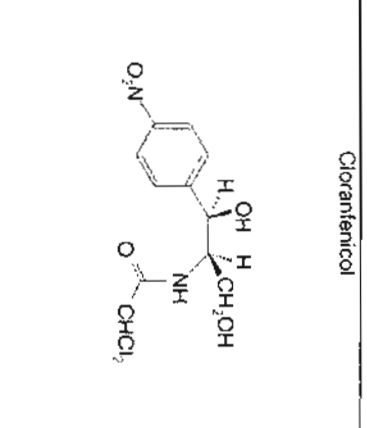
	30 µg	<i>Proteus spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Shigella</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>		
	30 µg	<i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>Staphylococcus pyogenes</i>		
	10 µg	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Gonococcus</i>		
<b>Carbapenemos</b>				
	10 µg	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter spp.</i>	<p>Las características que diferencian a los carbapenemos de las penicilinas y cefalosporinas, es que en su anillo presenta un átomo de carbono en la posición 1, en sustitución del átomo de azufre que comúnmente tienen la mayoría de las penicilinas y cefalosporinas, de ahí se deriva su nombre.</p>	<p>Por ser betalactámicos actúan inhibiendo la síntesis del peptidoglicano. Tienen gran afinidad por las "Penicilin-Binding-Proteins" (PBP), mecanismo por el cual inhiben la síntesis de la pared celular. Son bactericidas y producen la lisis rápida de las bacterias.</p>
	10 µg	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i>		

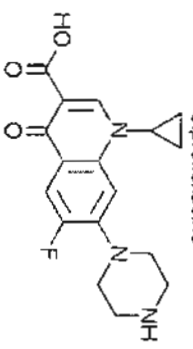
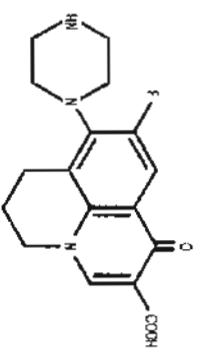
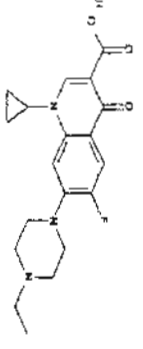
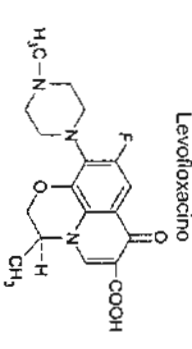
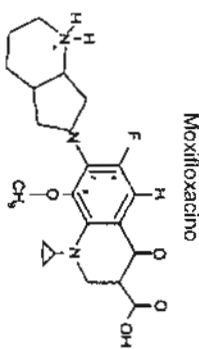
	10 µg	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp.		
<b>Cefalosporinas</b>				
	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	<p>Las modificaciones de la actividad de las cefalosporinas se debe a los cambios que se efectúan en la posición tres o siete agregándose diferentes radicales afectando así sus propiedades farmacocinéticas y de antibiosis.</p>	<p>Tiene la capacidad de interferir con las síntesis de los componentes de la pared celular bacteriana (peptidoglicanos), por interferir con las bacterias conocidas como "Penicilin-Binding-Proteins" (PBPs). La manera en que penetran las cefalosporinas al citoplasma de la bacteria es por los canales de la misma pared llamados "porinas".</p>
	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas		
	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas		
	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas		

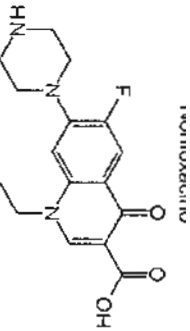
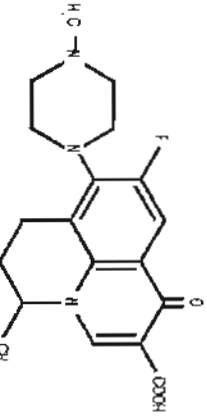
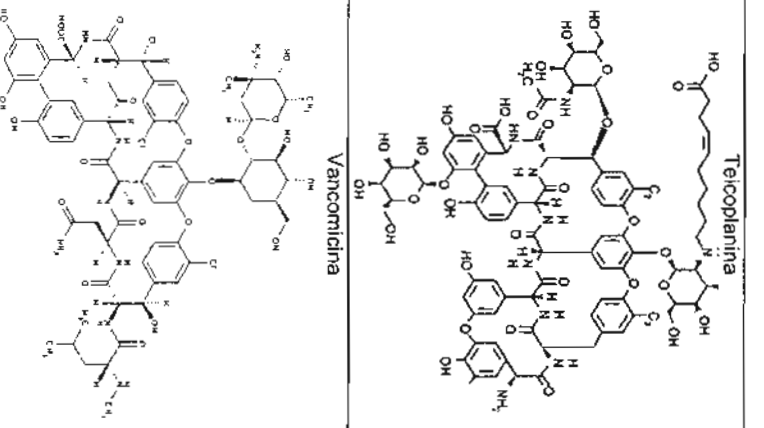
 <p>Ceftiofur sodium</p>	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	
 <p>Cefamandol</p>	30 µg	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i>	
 <p>Cefepim</p>	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	
 <p>Cefixima</p>	5 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	
 <p>Cefoper + Sulbactam</p>	30/75 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	

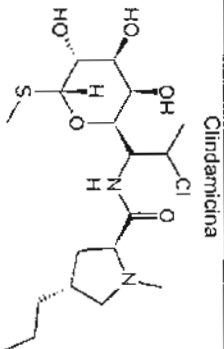
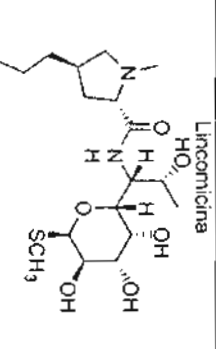
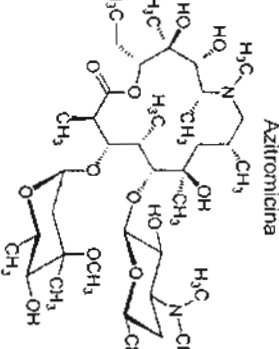
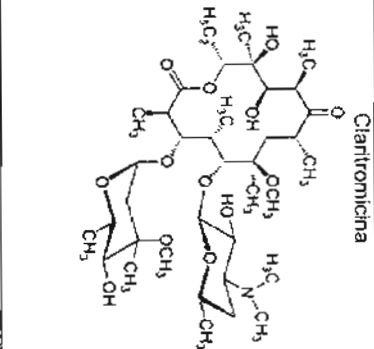


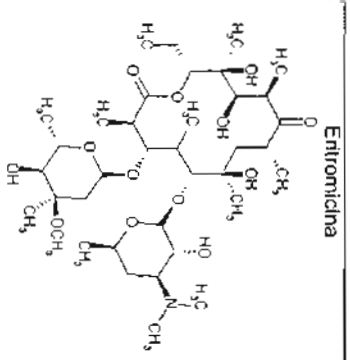
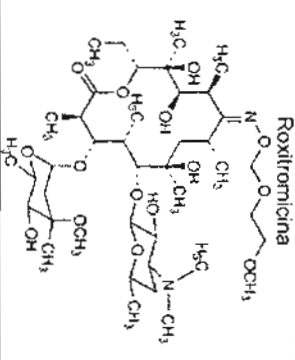
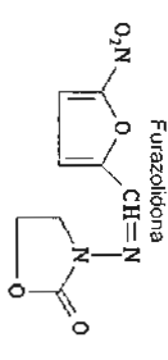
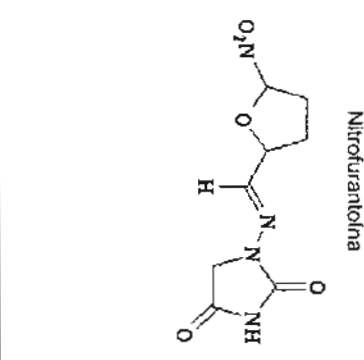
	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas		
	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas		
	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas		
	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas		
	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas		

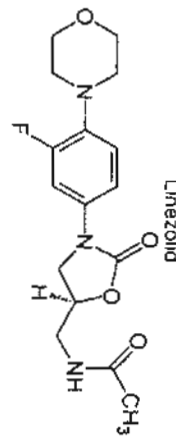
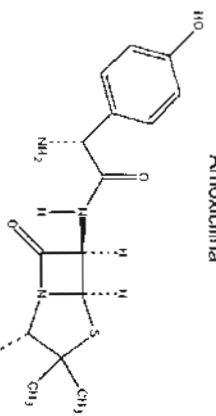
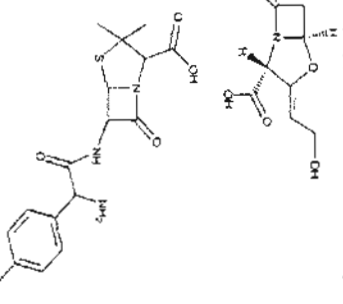
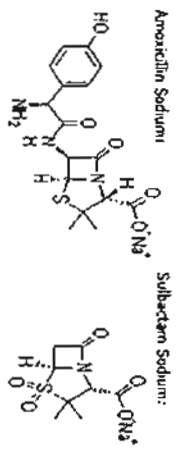
 <p>Cefuroxime</p>	30 µg	grampositivas y gramnegativas  <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Borrelia burgdorferi</i>		
Derivado de la Trimetoxibenzilpirimidina				
 <p>Trimetoprima</p>	5 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	Es un derivado de la trimetoxibenzil pirimidina.	Inhibe a la enzima dihidrofolato reductasa. La dihidrofolato reductasa participa en la conversión del ácido dihidrofolico a su forma funcional, el ácido tetrahidrofolico. Su inhibición agota las reservas de folato, un cofactor esencial en la biosíntesis de purinas y, en último lugar, del ADN bacteriano, por lo que su inhibición impide la división del microorganismo
Fenicoles				
 <p>Cloranfenicol</p>	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas, así como la mayoría de anaerobios.	Bajo esta denominación se incluyen dos fármacos, el cloranfenicol y el tianfenicol, derivados del ácido dicloroacético. El cloranfenicol posee un grupo nitro en posición para del anillo bencénico; este grupo es sustituido por otro sulfonamilo en el tianfenicol.	Ejerce sus efectos mediante la unión irreversible a la subunidad ribosomal 50s.

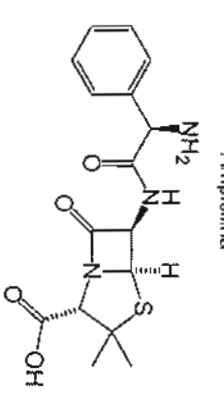
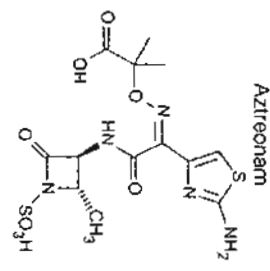
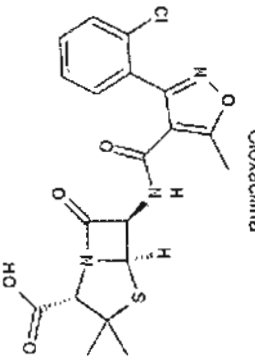
<p>Ciprofloxacino</p> 	<p>5 µg</p>	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>	<p>Las fluoroquinolonas son modificaciones químicas de un grupo de derivados quinolónicos más antiguos: ácido nalidixico, ácido oxolinico, ácido pipemídico. Gracias a la</p>	<p>Bloquean la ADN girasa de las bacterias, una enzima que interviene en el plegamiento de la doble hélice de ADN y es fundamental para que la estructura tridimensional del material genético sea correcta. La ADN girasa es necesaria para la reproducción y la reparación, lo que suspende el crecimiento de las bacterias. La acción es selectiva sobre ADN girasa bacteriana.</p>
<p>Enoxacino</p> 	<p>10 µg</p>	<p>Enterobacteriaceae Pseudomonas aeruginosa</p>	<p>introducción de un átomo de flúor en la molécula de las viejas quinolonas ha producido una modificación en sus propiedades; pero no en su mecanismo de acción.</p>	
<p>Enrofloxacino</p> 	<p>10 µg</p>	<p>Mycoplasma bovis, Mannhermia haemolytica, Pasteurella multocida, Histophilus somni</p>		
<p>Levofloxacino</p> 	<p>5 µg</p>	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>		
<p>Moxifloxacino</p> 	<p>5 µg</p>	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>		

 <p>Ofloxacin</p>	10 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas		
 <p>Telicoplanina</p>	30 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	<p><b>Glucopéptidos</b></p> <p>Son moléculas de estructura compleja que contienen un heptapeptido como estructura central.</p> <p>En la actualidad se dispone de vancomicina, de telicoplanina con estructura similar a la vancomicina, pero con sustituciones a nivel de los aminoácidos aromáticos; y de avoparcina, que se utiliza para promover el crecimiento animal.</p>	Actúan sobre la pared bacteriana, inhibiendo la síntesis del peptidoglucano.
 <p>Vancomicina</p>	30 µg	<p><i>Streptococcus pyogenes,</i></p> <p><i>Streptococcus viridans,</i></p> <p><i>Streptococcus pneumoniae,</i></p> <p><i>Clostridium difficile</i></p>		

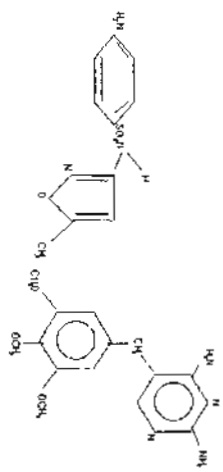
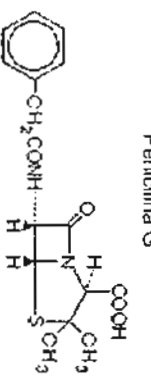
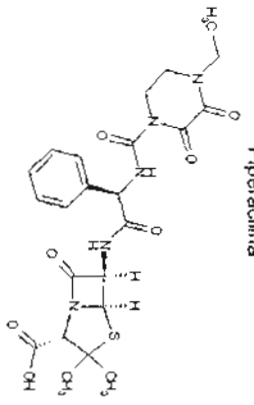
 <p>Clindamicina</p>	<p>2 µg.</p>	<p><i>Staphylococcus spp.</i>, <i>Streptococcus spp.</i>, <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Bacteroides spp.</i>, <i>Fusobacterium</i> <i>Actinomyces</i>, <i>Mycoplasmas</i>, <i>Plasmodium spp.</i></p>	<p>La clindamicina es un derivado semisintético de la lincomicina que difiere estructuralmente de este compuesto por la sustitución de un átomo de cloro por un grupo hidroxilo y la inversión del carbono en la posición 7 involucrada.</p>	<p>Se unen a la porción 23s de la subunidad 50S del ribosoma bacteriano inhibiendo la replicación temprana de la cadena peptídica a través de la inhibición de la reacción de la transpeptidasa.</p>
 <p>Lincomicina</p>	<p>2 µg</p>	<p><i>Fusobacterium</i> <i>Actinomyces</i>, <i>Mycoplasmas</i>, <i>Plasmodium spp.</i></p>	<p>Mediante modificaciones químicas específicas, se han podido eliminar las desventajas típicas de la eritromicina. En lugar del grupo catiónico en C9 de la molécula de eritromicina, se ha incorporado un grupo N-metilaminometilénico, con ello, se amplía el anillo lactónico típico de 14 segmentos de los macrólidos.</p>	<p>Interfieren con la formación de proteínas esenciales de la bacteria, lo que evita el crecimiento y la multiplicación de células bacterianas.</p>
<p>Macrólidos y Ketólidos</p>				
 <p>Azitromicina</p>	<p>15 µg</p>	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>	<p>Mediante modificaciones químicas específicas, se han podido eliminar las desventajas típicas de la eritromicina. En lugar del grupo catiónico en C9 de la molécula de eritromicina, se ha incorporado un grupo N-metilaminometilénico, con ello, se amplía el anillo lactónico típico de 14 segmentos de los macrólidos.</p>	<p>Interfieren con la formación de proteínas esenciales de la bacteria, lo que evita el crecimiento y la multiplicación de células bacterianas.</p>
 <p>Claritromicina</p>	<p>15 µg</p>	<p><i>Legionella pneumophila</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Helicobacter pylori</i></p>	<p>Mediante modificaciones químicas específicas, se han podido eliminar las desventajas típicas de la eritromicina. En lugar del grupo catiónico en C9 de la molécula de eritromicina, se ha incorporado un grupo N-metilaminometilénico, con ello, se amplía el anillo lactónico típico de 14 segmentos de los macrólidos.</p>	<p>Interfieren con la formación de proteínas esenciales de la bacteria, lo que evita el crecimiento y la multiplicación de células bacterianas.</p>

 <p>Entronitidina</p>	15 µg	<p><i>Mycoplasma pneumoniae</i>, <i>Legionella pneumophila</i>, <i>Chlamydia trachomatis</i>, <i>Chlamydia angiomatosis</i>, <i>Chlamydia spp.</i></p>		
 <p>Roxitronitidina</p>	15 µg	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>		
Nitrofuranos				
 <p>Furazolidona</p>	100 µg	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>		<p>Actúan interfiriendo con la acción de sistemas enzimáticos reguladores de los mecanismos oxidativos y glucolíticos esenciales para el crecimiento bacteriano.</p>
 <p>Nitrofurantoina</p>	300 µg	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>		

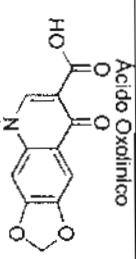
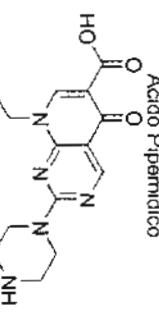
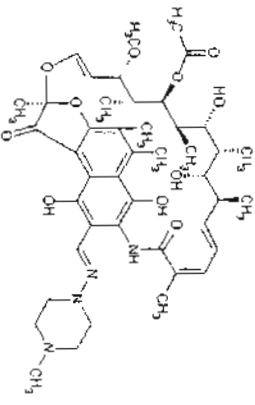
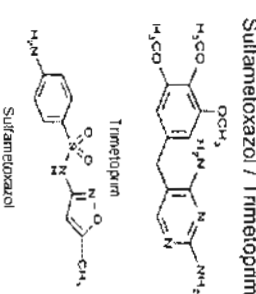
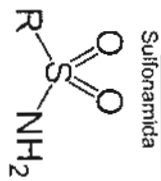
 <p>Linezolid</p>	<p>30 µg</p>	<p><i>Enterococcus faecium</i>, <i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Streptococcus agalactiae</i>, <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Streptococcus pyogenes</i></p>	<p>Linezolid posee una estructura tríclica, la cual es la responsable de su actividad. Además, posee anillos fluorados y grupos piperacínicos que potencian su actividad y un grupo morfolínico que aumenta su solubilidad y el perfil farmacocinético.</p>	<p>Inhiben la síntesis proteica, ya que se fijan a la subunidad 50S, inhibiendo la formación del complejo de iniciación 70S.</p>
<p><b>Penicilinas</b></p>				
 <p>Amoxicilina</p>	<p>25 µg</p>	<p><i>Streptococcus spp.</i></p>	<p>La mayoría de las penicilinas poseen como núcleo químico el anillo 6-aminopenicilánico y difieren entre sí según la cadena lateral anclada a su grupo amino. Este núcleo 6-aminopenicilánico o núcleo penam consta, a su vez, de un anillo tiazolidínico (un anillo iminofrónico de los tiazoles) enlazado a un anillo β-lactámico; este último, aparentemente esencial para la actividad antimicrobiana del compuesto.</p>	<p>Matan a muchas bacterias al interferir con la capacidad de las células bacterianas para producir paredes celulares protectoras conforme crecen.</p>
 <p>Amoxicilina + Acido Clavulánico</p>	<p>20/10 µg</p>	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>	<p>Además del nitrógeno y el azufre del anillo tiazolidínico y β-lactámico, la penicilina tiene las siguientes agrupaciones:</p>	
 <p>Amoxicilina Sodium Sulbactam Sodium:</p>	<p>10/10 µg</p>	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>	<p>Un grupo carboxilo en la posición 2.</p>	

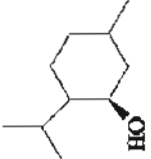
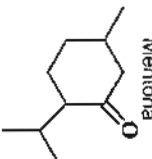
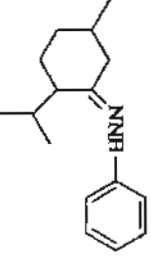
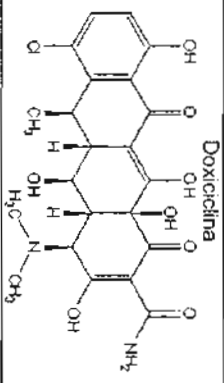

 <p>Amoxicilina + Subactam</p>	10/10 µg	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Influenzae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Listeria meningitis</i>	<p>Un grupo amino en la posición 6, con distintos derivados del grupo acilo como posibles sustituyentes, que son los responsables de las diversas características de las diferentes penicilinas.</p> <p>En la molécula hay tres carbonos asimétricos:</p> <p>El carbono C2, que tiene una configuración absoluta S. Los carbonos C5 y C6, que tienen una configuración absoluta R, presentando cada uno sus hidrógenos isomería cis entre ellos.</p>
 <p>Aztreonam</p>	30 µg	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Haemophilus spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i>	
 <p>Cloxacilina</p>	1 µg	<i>Proteus spp.</i> Bacterias grampositivas y gramnegativas	

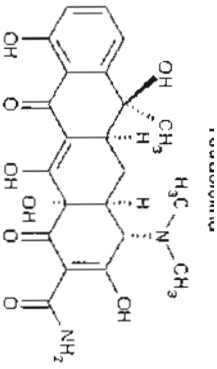



	1 µg	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.		
<p>Oxacilina</p> 	10 UI	Bacterias grampositivas y gramnegativas <i>Streptococcus</i> <i>viridans</i>		
<p>Piperacilina</p> 	100 µg	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.		

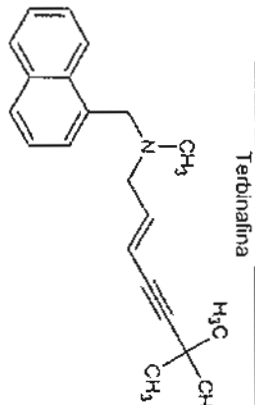
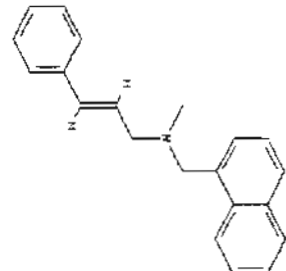
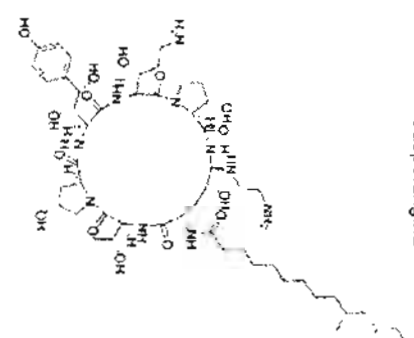
	1000 µg	grampositivas y gramnegativas		
<p><b>Colistina o Polimixina E</b></p>	10 µg	<p><i>Acinetobacter baumannii</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>Son una familia de decapéptidos catiónicos, ramificados y cíclicos; poco difusibles y con efectos tóxicos cuando se suministran por vía sistémica. Se designan con letras A, B, C, D y E, pero sólo la polimixina B y la polimixina E (o colistina) están disponibles para uso clínico</p>	<p>Actúan a nivel de las membranas celulares causando su disrupción por un efecto surfactante.</p>
<p><b>Polimixina B</b></p> <p>DAB= alpha,gamma diamino butyric acid In polymyxin B1, R= (+)-5-methylcyclohexanoyl In polymyxin B2, R= 6-methylheptanoyl</p>	300 U	Bacterias grampositivas y gramnegativas		
<b>Quinolonas</b>				
<p><b>Acido Nalidixico</b></p>	30 µg	<p><i>Escherichia coli</i>, <i>Proteus spp.</i>, <i>Shigella spp.</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Klebsiella</i></p>	<p>Las quinolonas tienen como núcleo común la estructura 4-oxo-1,4-dihidroquinoleína. El nitrógeno en posición 1 y el grupo carboxilado en posición 3 son indispensables para la actividad antibacteriana.</p>	<p>Actúan bloqueando la actividad de la subunidad A de la ADN girasa bacteriana (topoisomerasa II).</p>

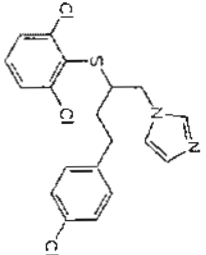
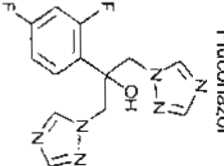
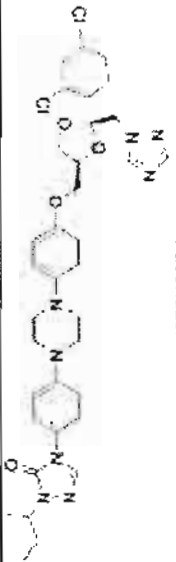
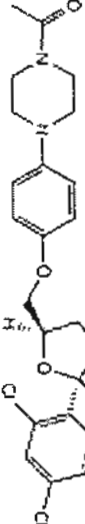
 <p>Acido Oxalínico</p>	2 µg	<i>Escherichia coli</i> , <i>Lactobacillus spp.</i>		
 <p>Acido Pipemídico</p>	20 µg	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
Rifamicinas				
 <p>Rifampicina</p>	5 µg	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Listeria</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Legionella pneumophila</i>	Antibióticos macrocíclicos complejos con estructuras semejantes. La rifampicina es un derivado semisintético de la rifamicina B.	Inhiben la polimerasa de RNA dependiente de DNA, para formar un complejo enzima – fármaco que suprime la formación de la cadena de síntesis de RNA.
Sulfonamidas				
 <p>Sulfametoxazolol / Trimetoprim</p>	25 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	El compuesto base de las sulfonamidas es la sulfanilamida, cuya estructura es similar al PABA, factor requerido por las bacterias para la síntesis del ácido fólico. Importa el grupo amino libre en posición 4 pues se relaciona con su actividad.	Suspenden el crecimiento de microorganismos, y su reproducción, al interferir con la formación de folato, un nutriente esencial para estos microorganismos. Este a su vez actúa en la síntesis de timina y purina. Esta acción se ejerce compitiendo por la acción de una enzima bacteriana responsable de la incorporación de PABA al ácido dihidropterico, precursor del ácido fólico.
 <p>Sulfonamida</p>	250 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	Las sustituciones a nivel del radical sulfonilo modifican las características farmacocinéticas, pero no la actividad	

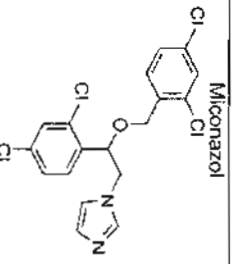
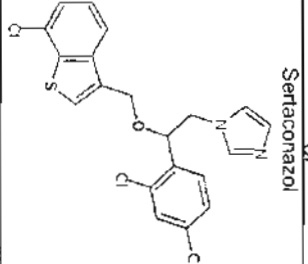
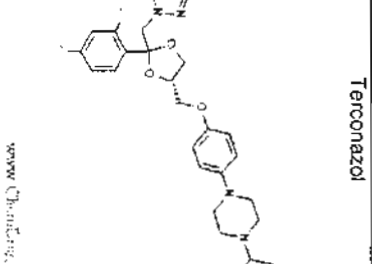
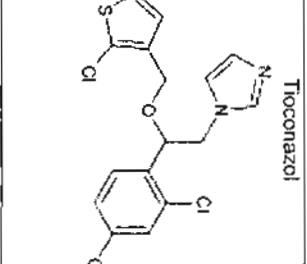
				<p>en el grupo amino en posición 4 dan compuestos de menor absorción intestinal.</p>	
<b>Terpenos</b>					
<p>Mentol</p> 	400 µg/mL	<p><i>Escherichia coli</i>, <i>Candida albicans</i></p>	<p>Los terpenos aunque tienen estructuras químicas muy distintas, proceden de la condensación, en número variable, de unidades isoprenicas y su fórmula general es <math>C_{10}H_{16}</math>.</p>	<p>Sus sitios de acción dentro de la célula microbiana, incluye a la membrana celular, pared celular, enzimas metabólicas, síntesis de proteínas y el sistema genético, todos ellos estratégicos para la supervivencia de los microorganismos y cualquier acción sobre ellos depende de las concentraciones utilizadas para que puedan causar la inhibición o inactivación de los microorganismos.</p>	
<p>Mentona</p> 	400 µg/mL	<p><i>Candida albicans</i>, <i>Trichophyton tonsurans</i>, <i>Trichophyton mentagrophytus</i>, <i>Microsporium canis</i></p>			
<p>Mentona Fenilhidrazona</p> 	75 µg/mL	<p><i>Candida albicans</i></p>			
<b>Tetraciclinas</b>					
<p>Doxiciclina</p> 	30 µg	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>	<p>La estructura química de las tetraciclinas es 4 anillos.</p>	<p>Interfieren con la producción de proteínas necesarias para la replicación de ciertos microorganismos.</p>	
<p>Mincociclina</p> 	30 µg	<p>Bacterias grampositivas y gramnegativas</p>			

	200 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	Otros	
	200 µg	Bacterias grampositivas y gramnegativas	No es un betalactámico.	<p>Inhibe el primer estadio de la síntesis de mureína impidiendo la formación de UDP-N-Acetil Murámico. Bloquea la enzima que une al Fosfoenol Piruvato (PEP) con el UDP-N-Acetil Glucosamina. La fosfomicina penetra en la célula bacteriana mediante permeasas que generalmente transportan D-Glucosa-6-Fosfato.</p>

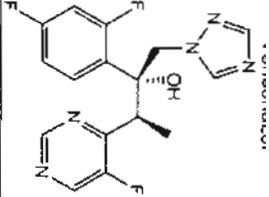
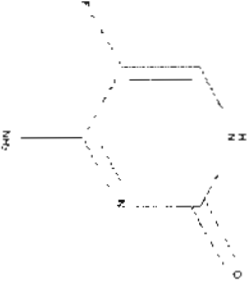
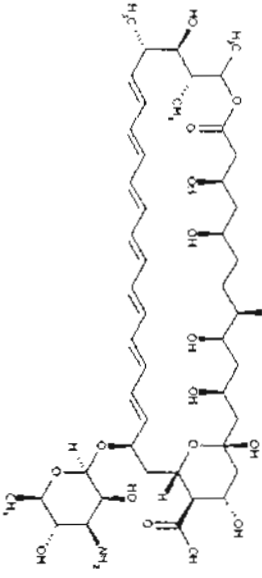
**ANÁLISIS Y DIAGNÓSTICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CAUSADA POR *Candida albicans***

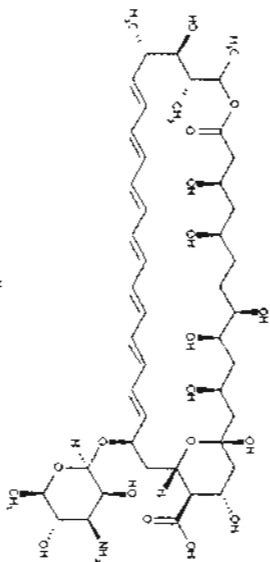
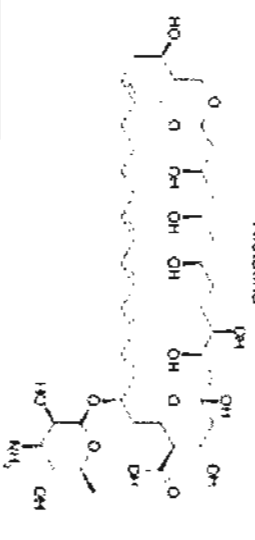
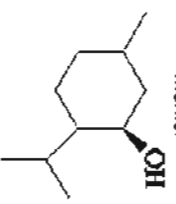
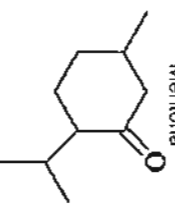
ESTRUCTURA	CME	OTRAS BACTERIAS	MODIFICACIONES A LA ESTRUCTURA	MECANISMO DE ACCIÓN
<p><b>Terbinafina</b></p> 	100 µg/mL	<p>Alilaminas</p> <p><i>Trichophyton</i> spp., <i>Microsporum</i> spp., <i>Mycosporum canis</i>, <i>Epidermophyton floccosum</i>, <i>Pityriasis versicolor</i> o <i>Malassezia furfur</i></p>	Las alilaminas son derivados del naftaleno.	Las alilaminas inhiben a la enzima escualeno epoxidasa, de esta forma disminuye la concentración de ergosterol, aumentan los niveles de escualeno, aumenta la permeabilidad de la membrana celular, se interrumpe la organización celular y disminuye el crecimiento del hongo.
<p><b>Naftifina</b></p> 	> 30 µg/mL	<p><i>Trichophyton mentagrophytes</i>, <i>Trichophyton tonsurans</i>, <i>Epidermophyton floccosum</i>, <i>Pityriasis versicolor</i></p>	Las equinocandinas son lipopéptidos sintéticamente modificados, derivados originalmente a partir de un producto original sintetizado por un hongo conocido como <i>Glaea lazarensis</i> .	Su mecanismo de acción radica en la inhibición de la 1,3-β-glucanosiltransferasa, enzima responsable de formar polímeros de glucano, esenciales para la estructura de la pared fúngica. La inhibición de esta enzima, lleva consigo una disminución de la síntesis del glucano, permitiendo que la célula fúngica entre en fase de inestabilidad osmótica y posterior muerte.
<p><b>Caspofungina</b></p> 	La CMI <sub>50</sub> oscila entre 0,5 y 1 µg/mL	<p><i>Aspergillus</i> spp., <i>Histoplasma capsulatum</i>, <i>Coccidioides immitis</i>, <i>Blastomyces dermatitidis</i></p>	Las equinocandinas son lipopéptidos sintéticamente modificados, derivados originalmente a partir de un producto original sintetizado por un hongo conocido como <i>Glaea lazarensis</i> .	Su mecanismo de acción radica en la inhibición de la 1,3-β-glucanosiltransferasa, enzima responsable de formar polímeros de glucano, esenciales para la estructura de la pared fúngica. La inhibición de esta enzima, lleva consigo una disminución de la síntesis del glucano, permitiendo que la célula fúngica entre en fase de inestabilidad osmótica y posterior muerte.

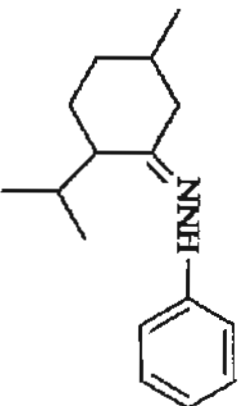
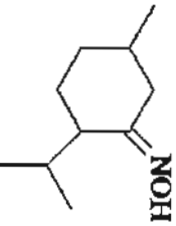
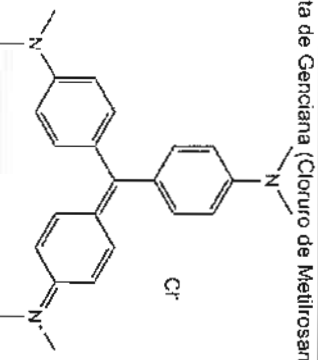
 <p>Buticonazol</p>	100 mg	<i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida spp.</i>	<p>Los antifúngicos azólicos son preparados sintéticos constituidos por diferentes anillos fenílicos, cuya característica común es la presencia de uno o más anillos de cinco elementos en cuya estructura están presentes dos moléculas de nitrógeno (imidazoles) o tres moléculas de nitrógeno (triazoles).</p>	<p>La auténtica diana que utilizan los azoles para inhibir la 14-<math>\alpha</math>-demetilación del lanosterol es una proteína hem del citocromo p-450, bloqueando el lugar reservado para el oxígeno. La depleción de ergosterol altera la fluidez de la membrana reduciendo la actividad de enzimas asociadas a ésta, aumentando así la permeabilidad e inhibiendo el crecimiento y la replicación celular.</p>
 <p>Clotrimazol</p>	100 mg	<p>Ampio espectro <i>Streptococcus pyogenes</i>, <i>Proteus spp.</i></p>		
 <p>Itraconazol</p>	0.5 µg/ml	Ampio espectro		
 <p>Ketoconazol</p>	0.2 - 50 µg/ml	<p><i>Trichophyton spp.</i>, <i>Epidermophyton spp.</i>, <i>Microsporium spp.</i>, <i>Malassezia spp.</i> (<i>Pityrosporum spp.</i>).</p>		

 <p>Miconazol</p>	<p>0.1 y 25 µg/mL</p>	<p>Amplio espectro</p>		
 <p>Sertaconazol</p>	<p>0.77 mg/L</p>	<p><i>Epidermophyton floccosum</i>, <i>Trichophyton rubrum</i>, <i>Trichophyton mentagrophytes</i></p>		
 <p>Terconazol</p>	<p>80 mg</p>	<p><i>Candida tropicalis</i>, <i>Torulopsis glabrata</i></p>		
 <p>Tioconazol</p> <p><a href="http://www.Chemistry.com">www.Chemistry.com</a></p>	<p><math>3.8 \times 10^{-5}</math> M</p>	<p><i>Trichophyton</i> spp., <i>Microsporium</i> spp., <i>Epidermophyton floccosum</i>, <i>Candida</i> spp., <i>Pityrosporum orbiculare</i></p>		



	<p>0.25 µg/ml</p>	<p>Amplio espectro</p>		
<p><b>Flucitosina</b></p> 	<p>La <math>CM_{50}</math> es de 0.5 µg/ml y la <math>CM_{90}</math> de 4 µg/ml.</p> <p>Usualmente la flucitosina se administra con la anfotericina B para evitar el rápido desarrollo de resistencia a la flucitosina sola.</p>	<p><b>Primidinas fluoradas</b></p> <p>Amplio espectro</p>	<p>La flucitosina es una pirimidina fluorada que guarda relación con el fluorouracilo y la floxuridina. Es una 5-fluorocitosina.</p>	<p>Todos los hongos sensibles son capaces de desaminar la flucitosina hasta dar 5-fluorouracilo, que es un potente antimetabólico. Este procto termina en 5-fluorodesoxiuridilico, que es un inhibidor potente de la timidilato sintetasa.</p>
<p><b>Anfotericina B</b></p> 	<p>0.05 y 0.5 µg/ml</p>	<p><b>Poliénos</b></p> <p>Amplio espectro</p>	<p>Los políenos son compuestos orgánicos que tienen más de dos dobles enlaces en su estructura y los cuales están separados por un enlace sencillo.</p>	<p>Son macrólidos y actúan selectivamente sobre microorganismos que contienen esteroides en la membrana (hongos, levaduras, micoplasmas, etc). Los políenos se unen a los esteroides provocando que la membrana sea permeable al <math>K^+</math> y a moléculas del tamaño de la glucosa a causa de la formación de poros.</p>

 <p style="text-align: center;"><b>Nistatina</b></p>		<p>contra la meningitis por criptococos y en la causada por cándida.</p>	
 <p style="text-align: center;"><b>Nistatina</b></p>	<p>≤ 2000 U/ml</p>	<p><i>Candida spp.</i></p>	
<b>Terpenos</b>			
<p style="text-align: center;"><b>Mentol</b></p> 	<p>500 µg/ml</p>	<p><i>Escherichia coli,</i> <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Los terpenos aunque tienen estructuras químicas muy distintas, proceden de la condensación, en número variable, de unidades isoprenicas y su fórmula general es C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Mentona</b></p> 	<p>500 µg/ml</p>	<p><i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Trichophyton tonsurans,</i> <i>Trichophyton mentagophytus,</i> <i>Microsporium canis</i></p>	<p>Sus sitios de acción dentro de la célula microbiana, incluye a la membrana celular, pared celular, enzimas metabólicas, síntesis de proteínas y el sistema genético, todos ellos estratégicos para la supervivencia de los microorganismos y cualquier acción sobre ellos depende de</p>

 <p>Mentona Oxima</p>	<p>37.5 µg/mL</p>			<p>para que pueden causar la inhibición o inactivación de los microorganismos</p>
 <p>Mentona Oxima</p>	<p>1%</p>	<p>Otros</p>	<p>Puede ser utilizado para tratar infecciones de hongos como pie de atleta pero también es muy bueno para tratar cortadas u otras heridas superficiales, evitando infecciones.</p>	<p>Es un antiséptico que puede usarse como toques para infecciones, ampollas o heridas superficiales.</p>
 <p>Violeta de Genciana (Cloruro de Metirosanilina)</p>				<p>Bloquea la conversión del ácido UDP-acetilmurámico en UDP-acetilmuramilo-péptido.</p>