

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

***INSTITUTO DE INGENIERÍA  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA***



**EFFECTO COMPARATIVO DE LAS PROPIEDADES  
ANTIBACTERIALES DE TRICLOSAN Y SUS  
ESTERES DEL ACIDO ADIPICO MONO Y  
DISUBSTITUIDOS.**

**TRABAJO DE TESIS**

Presentado por:

**Víctor Hugo Vázquez Limón**

Director:

**Dr. Benjamín Valdez Salas**

Para obtener el grado de:

**MAESTRO EN INGENIERIA**

Mexicali, B.C., Diciembre 2010

# INDICE

CONTENIDO	PÁGINA
<b>Reconocimientos Institucionales</b>	5
<b>Capítulo 1 Introducción</b>	6
1.1 Resumen	7
1.2 Antecedentes	8
1.3 Hipótesis	13
1.4 Objetivos	13
<b>Capítulo 2 Fundamentos Teóricos</b>	14
2.1 Fundamentos Teóricos	15
<b>Capítulo 3 Materiales y Metodología</b>	27
3.1 Material, equipo y reactivos	28
3.2 Síntesis del mono y diéster del triclosan	29
3.2.1. Cloruro de adipoilo	29
3.2.2. Obtención del monoéster del triclosan	29
3.2.3. Preparación del diéster del triclosan	30
3.3 Caracterización fisicoquímica	30
3.3.1 Determinación del peso molecular por crioscopia	31
3.4 Evaluación de la eficacia antimicrobial	33
3.4.1 Evaluación de la eficiencia antimicrobial cualitativa	33
3.4.2 Evaluación de la eficiencia antimicrobial cuantitativa	34
3.5 Medición del halo de inhibición	35
<b>Capítulo 4 Resultados y Discusiones</b>	38
4.1 Síntesis de intermediarios y ésteres del triclosan	39
4.1.1 Síntesis del cloruro de adipoilo	39
4.1.2 Síntesis de ésteres del triclosan	39
4.2 Resultados de medición del punto de fusión	44
4.3 Determinación del peso molecular por crioscopia	45
4.4 Evaluación de la eficacia antimicrobial	45

<b>Conclusiones</b>	54
<b>Bibliografía</b>	56
<b>Glosario</b>	61
<b>Anexo A</b>	66
<b>Anexo B</b>	68
<b>Lista de Tablas</b>	
<b>Tabla 1.</b> Microorganismos; bacterias, hongos y levaduras sensibles al efecto microbicida del triclosan	16
<b>Tabla 2.</b> Resultados de halo de inhibición en ensayos cualitativos con concentraciones de 0.5 %, 0.9 % y 1.2 % en peso.	46
<b>Tabla 3.</b> Resultados de halo de inhibición en ensayos cualitativos con concentraciones de 0.5 %, 0.4 % y 0.6 % en peso	47
<b>Lista de Figuras</b>	
<b>Figura 1.</b> Estructura del triclosan ( PM 289.5 )	9
<b>Figura 2.</b> Estructura del Mono éster del Triclosán.	15
<b>Figura 3.</b> Estructura del Diéster del Triclosán.	16
<b>Figura 4.</b> Ácido carboxílico	17
<b>Figura 5.</b> Reacción de Esterificación.	18
<b>Figura 6.</b> Cloruro de Ácido	18
<b>Figura 7.</b> Cloruro de Tionilo	18
<b>Figura 8.</b> Formación de esteres vía cloruro de ácido	19
<b>Figura 9.</b> Reacción de Schotten-Baumann	20
<b>Figura 10.</b> Reacción Cloruro de Acido	39
<b>Figura 11.</b> Espectro FTIR Triclosán, se pueden observar las señales características del Difenil éter: 1060-1150 y del grupo OH en 3650.	41
<b>Figura 12.</b> Espectro de FTIR del mono éster de triclosan	42
<b>Figura 13.</b> Espectros de FTIR del diéster de triclosan	43
<b>Figura 15.</b> Cajas de Petri con cultivo de control donde se ve el crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i>	48

<b>Figura 16.</b> Caja Petri Tela de control donde se observa que no hay halo de inhibición y si crecimiento continuo en cada línea de colonias de <i>staphylococcus aureus</i> .	48
<b>Figura 17.</b> Caja de Petri tela con 0.2 % de triclosan.	49
<b>Figura 18.</b> Caja de Petri tela con 0.4 % de triclosan.	49
<b>Figura 19.</b> Caja de Petri tela con 0.6 % de triclosan.	50
<b>Figura 20.</b> Caja de Petri tela con 0.2 % de monoéster de triclosan.	50
<b>Figura 21.</b> Caja de Petri tela con 0.4 % de monoéster de triclosan.	51
<b>Figura 22.</b> Caja de Petri tela con 0.6 % de monoéster de triclosan.	51
<b>Figura 23.</b> Caja de Petri tela con 0.2 % de diéster de triclosan.	52
<b>Figura 24.</b> Caja de Petri tela con 0.4 % de diéster de triclosan.	52
<b>Figura 25.</b> Caja de Petri tela con 0.6 % de diéster de triclosan.	53
<b>Figura 26.</b> Caja Petri tela 0.1 % triclosan a esta concentración el halo de inhibición no es completo.	53

## **RECONOCIMIENTOS INSTITUCIONALES**

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio Polytex de la Universidad Autónoma Guadalajara, bajo la dirección del Dr. Benjamín Valdez Salas.

Agradezco el apoyo brindado por CONACYT para la realización de mis estudios de Posgrado. Asimismo, agradezco al Instituto de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California por el apoyo brindado para la realización de mis estudios.

Agradezco el apoyo brindado por el Instituto de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California, y muy en particular al Dr. Benjamín Valdez por su apoyo y orientación incondicionales.

A Dios, y a todos y cada uno de mis maestros, compañeros y amigos, y a mi familia:

**GRACIAS POR SU PACIENCIA!!!!**

# **CAPITULO 1**

## **INTRODUCCIÓN**

## 1.1 RESUMEN

En 1928 Alexander Fleming investigaba el virus de la influenza cuando notó que en una de las cajas Petri estaba creciendo moho y que alrededor de este se había formado un halo de inhibición.

El triclosan es un agente antimicrobiano de amplio-espectro, producido inicialmente por Ciba Specialty bajo el nombre comercial Irgasan DP 300.

El triclosan por su actividad bacteriostática contra una amplia gama de bacterias Gram negativas y Gram positivas ha aumentando su uso en productos del cuidado personal, como la pasta de dientes, jabones desodorizantes y detergentes líquidos. También se utiliza en plásticos, polímeros y fibras textiles para proporcionar propiedades antibacteriales. Además del triclosan existen otros compuestos de carácter fenólico como el cloro dimetil fenol y el hexaclorofeno que son agentes antimicrobianos.

En el presente trabajo se obtuvieron los derivados mono y disustituido del ácido adípico del triclosan, por esterificación mediante la reacción del cloruro de adipilo con triclosan, mediante la reacción de Schotten-Baumann .

Los derivados obtenidos se caracterizaron mediante análisis por espectroscopia infrarroja con transformadas de Fourier FTIR, así como también la determinación de puntos de fusión. Para evaluar el poder antibacterial de los compuestos sintetizados se llevaron a cabo ensayos con crecimientos bacterianos en los que se aplicaron los derivados mono y di sustituidos a cultivos bacterianos teniendo como blanco al triclosan puro.

El triclosan ha sido durante muchos años el antimicrobiano preferido por las empresas del ramo farmacéutico e higiénico debido a ser un poderoso agente fungicida, por su bajo costo de manufactura y a la facilidad con la cual puede ser procesado. Debido a esto, los fabricantes de todo el mundo han incluido en sus formulaciones agentes antibacteriales como el triclosan bajo diferentes nombres comerciales, y lo han empleado en algunos productos como pastas de dientes, enjuagues bucales, desodorantes, jabones y lociones.

La creación de antimicrobianos ha pasado a ser una preocupación mundial, pero además se han tratado de obtener agentes antibacteriales eficientes con un amplio espectro de funcionalidad, los cuales puedan usarse en menor medida con lo que se evitaría la mutación de las cepas y su posterior reproducción.

En este trabajo se presenta la síntesis y caracterización de dos derivados mono éster y diéster del ácido adípico del triclosan y estos se compararon con las propiedades antibacteriales contra las del triclosan.

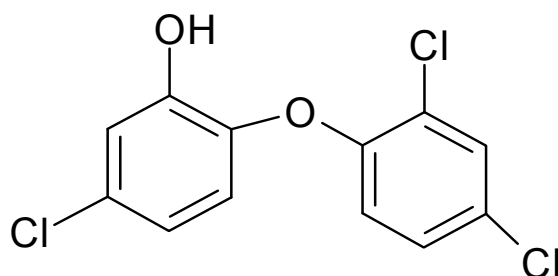
## **1.2 ANTECEDENTES**

En 1928 Alexander Fleming investigaba el virus de la influenza cuando notó que en una de las cajas Petri estaba creciendo moho y que alrededor de éste se había formado un halo de inhibición. Fleming comunicó su descubrimiento sobre la penicilina en el British Journal of Experimental Pathology en 1929. Fue así como nació la penicilina, primer antibiótico que supuso la existencia de sustancias capaces de luchar contra las bacterias. Desde entonces a la fecha se han descubierto una gran variedad de productos naturales con propiedades



antibióticas y en base a ellos se han sintetizado una gran variedad de agentes con propiedades antibióticas, antibacteriales, antimicrobiales, antimicóticas etc.

El triclosan es un agente antibacterial de origen sintético que fue patentado por Ciba y comercializado bajo el nombre de Irgasan DP300. Su nombre químico es: 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol de acuerdo a la IUPAC, (2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter) y su número CAS 3380-34-5. En la Figura 1, se muestra su estructura. Otros productores han comercializado el triclosan como Microban, Lexol 300, Ster-Zac, Cloxifenolum, Aquasept, Gamophen, CH 3565, Irgacare MP, Biofresh (6,7). Una vez liberada la patente, Organosíntesis, S. A., inició la producción de triclosan en México a la mitad de precio del Irgasan DP300 de Ciba.



**Figura 1.** Estructura del triclosan ( PM 289.5 )

El triclosan por su actividad antibacterial contra una amplia gama de bacterias gram-negativo y gram-positivo ha aumentando su uso en productos del cuidado personal, como la pasta de dientes, jabones deodorisantes, detergentes líquidos, etc. También se utiliza en plásticos, polímeros y fibras textiles para proporcionar propiedades antibacteriales [2-4].

El triclosan inhibe el crecimiento de microorganismos por un mecanismo electroquímico. El agente biocida (triclosan) actúa bloqueando los sitios activos de la proteína de la enzima reductasa (ENR), la cual es una enzima esencial para la síntesis de ácido grasos de la bacteria. Cuando se bloquea esta enzima, la bacteria no sintetiza los ácidos grasos que son necesarios para su reproducción y para construir las paredes celulares. Los seres humanos no tenemos la enzima reductasa (ENR), así que prácticamente no es dañina. (15).

Algunas de las desventajas del triclosan en los tratamientos textiles son:

- ❖ Tiene un punto de fusión relativamente bajo (p.f. 56 C) que limita su uso en productos que requieren procesos térmicos.
- ❖ Por su carácter fenólico es soluble en medios alcalinos y esto facilita su pérdida en los lavados.
- ❖ Es el agente antibacterial más utilizado y algunas bacterias pueden desarrollar resistencia.

En este trabajo se sintetizaron dos derivados del triclosan y del ácido adípico con el objetivo de superar algunas de las desventajas antes mencionadas, ya que un derivado de mayor peso molecular se esperaba que tuviera un mayor punto de fusión y de esta manera resistiera mejor a los procesos térmicos de producción. El diéster al no tener el grupo fenólico, se esperaba una mayor resistencia a los detergentes. Las pruebas antibacteriales se realizaron de manera comparativa contra el triclosan.

Debido a que no se encontraron antecedentes de estos compuestos, mono y diéster de ácido adípico, se caracterizaron mediante espectroscopia de FTIR y se determinaron algunas otras de sus propiedades.

Se ha reportado por diversas fuentes la obtención de monoésteres y diésteres (11,12 ). Por ejemplo, BP Chemicals Limited patentó el procedimiento para la fabricación de un éster de ácido carboxílico por reacción de un ácido carboxílico orgánico, en presencia de un catalizador pudiendo ser elegido el ácido sulfónico que es estable a un rango de temperatura ( 125 C – 185 C) a una presión entre 1 y 8 bares, para obtener un éster volátil, siendo los ácidos carboxílicos: ácido acético, propiónico o butanoico, y los alcoholes, metanol, etanol así como propanol. (5,15 ) .

El triclosan es uno de los productos que más se usa , como inhibidor de placa antibacteriana en dentífricos y en los colutorios (enjuagues bucales) [6]

En el artículo Microbiological Aspects of the Chemical Control of Plaque and Gingivitis escrito por P.D. Marsh en 1992 [7], describe que a pesar de que muchos agentes microbiales parecen servir para el control de placa dental bucal solo aquellos que incluyen triclosan tienen una eficacia clínica.

En el ambiente textil, también se ha utilizado el triclosan, dándoles propiedades antimicrobianas, principalmente al algodón, aunque como se mencionó antes, el triclosan tiene la desventaja de perderse durante las lavadas por efecto del detergente y en los procesos térmicos debido a su bajo punto de fusión. En la patente USP-6,299,651 [8], Li Shulong, de Milliken &Co., en el año 1999, propone

el uso de un derivado de triclosan, el acetato de triclosan, como una alternativa para alargar el efecto antibacterial en textiles con tratamiento superficial, al bajar mediante la incorporación de acetato de triclosan la solubilidad en medio alcalino y así evitar la volatilidad del producto. Según los resultados de esta nueva patente, el acetato de triclosan tuvo una buena resistencia a procesos térmicos entre 40 y 120°C.

El uso de triclosan en las fibras termoplásticas como nylon y poliéster se ha visto limitada por la desventaja de éste ya que su punto de fusión es relativamente bajo para ser utilizado con éstos polímeros.

Para mejorar la eficiencia del triclosan, algunos investigadores reportan el uso de la microencapsulación para tener una liberación prolongada del triclosan. Kim Jin-Chul y colaboradores en el 2001 [9] publicaron sobre la preparación y caracterización de micro cápsulas conteniendo triclosan por complejos de coacervación, usando como agentes encapsulantes gelatina y carboximetilcelulosa. Por otro lado se han obtenido diferentes ésteres de triclosan y se ha estudiado el efecto en la actividad antibacterial y su actividad contra la malaria de acuerdo al trabajo reportado en el 2008 por Satyendra Mishra [10]. No se reportan en este artículo los puntos de fusión de los derivados obtenidos, pero de acuerdo a su estructura química, algunos de ellos pueden tener puntos de fusión lo suficientemente altos para resistir los procesos de extrusión. Así como el estudio reportado en el 2009 por Joel S. Freunlich (14) en el cual desarrollaron una serie de derivados de triclosán sustituidos, que fueron probados contra cepas de *mycobacterium tuberculosis*.

Es deseable para el mejor uso del triclosan, que las desventajas como el bajo punto de fusión, se pueda elevar para usar el triclosan en procesos térmicos a más altas temperaturas.

### **1.3. HIPOTESIS**

Los ésteres del ácido adípico mono y disustituidos del triclosan tendrán mejores propiedades antibacteriales y un punto de fusión mayor que el triclosan puro.

### **1.4. OBJETIVOS**

Los objetivos de este trabajo de investigación son:

1. Sintetizar los esteres del ácido adípico mono y disustituidos del triclosan.
2. Caracterizar mediante análisis por espectroscopia infrarroja con transformadas de Fourier FTIR. Así como también la determinación de puntos de fusión.
3. Evaluar el poder antibacterial de los compuestos sintetizados por medio de ensayos con crecimientos bacterianos en los que se aplicaran los derivados mono y di sustituidos a cultivos bacterianos teniendo como blanco al triclosan puro.
4. Proponer a Organosíntesis\* la producción de estos derivados de triclosán con actividad antibacterial y propiedades físicas diferentes.

# **CAPITULO 2**

## **FUNDAMENTOS**

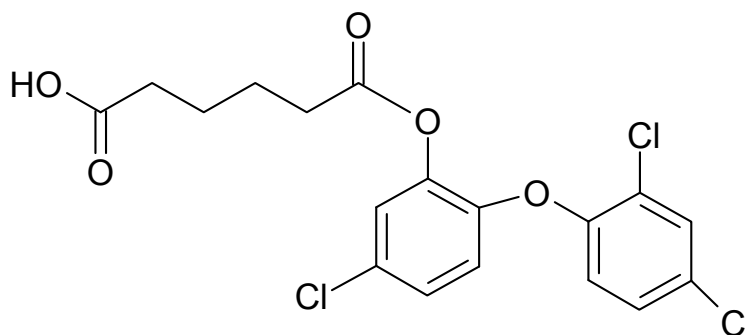
## **TEÓRICOS**

## 2.1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

El triclosan al igual que otros fenoles puede reaccionar con ácidos produciendo ésteres. Con la reacción del triclosán con un diácido, podemos obtener un monoéster o diéster dependiendo de las condiciones de la reacción.

Los ácidos carboxílicos y los cloruros de ácido, reaccionan con los alcoholes, fenoles y aminas.

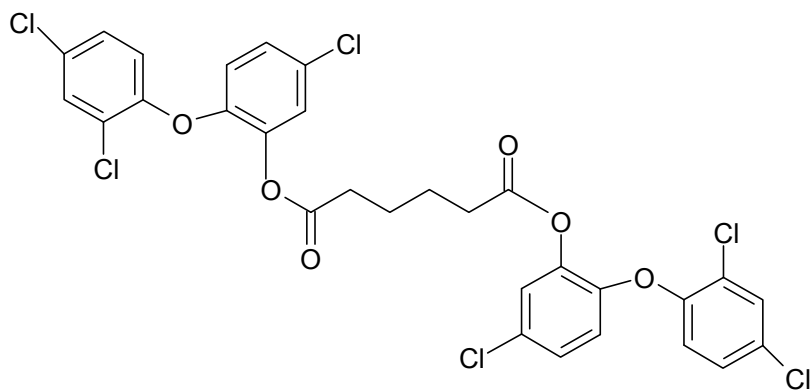
En la Figura 3, se muestra la estructura del derivado mono éster del Triclosan, con el aumento del peso molecular, se espera un mayor punto de fusión del producto, ya que se incrementa de 289 a 417 g/mol ( Delta PM= 128 gr/mol ). Por otra parte la terminal ácido hace la molécula más hidrofílica, permitiendo la formación de puentes de hidrógeno y con esto el aumento del punto de fusión.



**Figura 2.** Estructura del Mono éster del Triclosán.

El diéster del triclosán, cuya estructura se presenta en la Figura 4, tiene un incremento aún mayor en cuanto al peso molecular, que se incrementa de 289 a 689 gr/mol ( delta PM = 400 gr/mol ) aunque a diferencia del mono éster, no tiene

grupos hidrofílicos, por lo que se espera que sea liposoluble y se espera un punto de fusión menor que el monoéster.



**Figura 3.** Estructura del Diéster del Triclosán.

El triclosan también es efectivo contra hongos y levaduras, ejemplo de estos microorganismos son mostrados en la Tabla 1:

Tabla 1. Microorganismos; bacterias, hongos y levaduras sensibles al efecto microbicida del triclosan

<b>Bacterias Gram-positivas</b>	<b>Bacterias Gram-negativas</b>	<b>Hongos y Levaduras</b>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Corynebacterium acnes</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Epidermophyton floccosum</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	
<i>Streptococcus saprophyticus</i>		



## Ácidos y diácidos carboxílicos

Los ácidos carboxílicos son sustancias que contienen el grupo funcional carboxilo (-COOH), cuya estructura general se presenta en la Figura 5, que puede estar unido a un hidrógeno (HCOOH), a un grupo alquilo (RCOOH) o aun grupo arilo (ArCOOH).

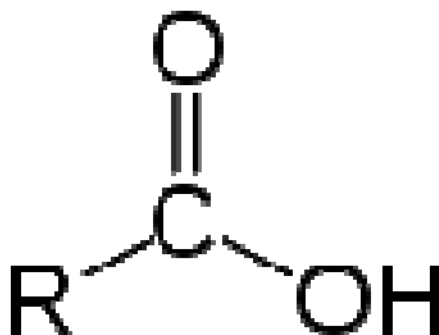
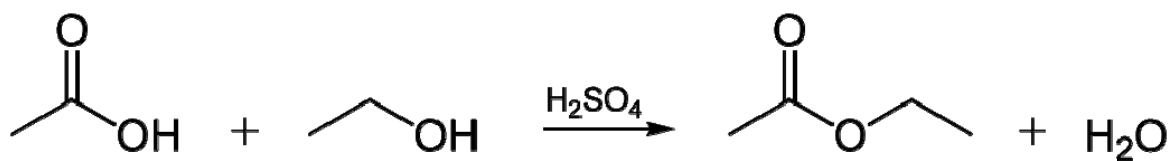


Figura 4. Ácido carboxílico

Un ácido dicarboxílico es un compuesto de carbono que tiene dos grupos funcionales carboxilo (-COOH), su fórmula corresponde a HOOC-R-COOH donde R puede ser un grupo alquilo, arilo. El ácido adípico es un diácido que se usa en la preparación de poliamidas como el Nylon.

## Esterificación

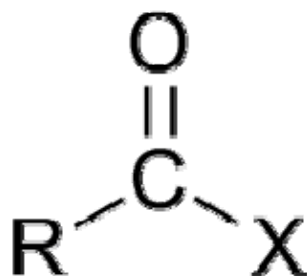
Los ésteres se preparan ordinariamente por la reacción de ácidos y sus derivados con alcoholes o fenoles, representada en la Figura 6. Su fórmula corresponde a R-COOR', donde R y R' pueden ser grupos alquilo o arilo.



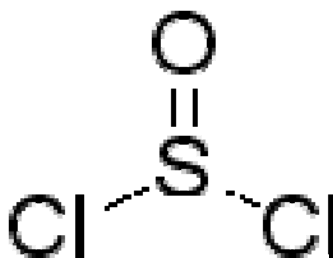
**Figura 5.** Reacción de Esterificación.

### Cloruros de Ácido:

Los cloruros de ácido o cloruros de acilo, Figura 7, se obtienen al reaccionar el ácido orgánico con cloruro de tionilo,  $\text{SOCl}_2$ , Figura 8, tricloruro de fósforo,  $\text{PCl}_3$  y pentacloruro de fósforo  $\text{PCl}_5$ .



**Figura 6.** Cloruro de Ácido

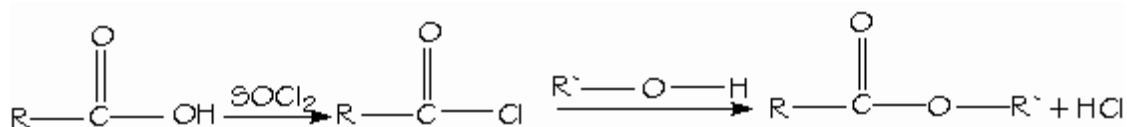


**Figura 7.** Cloruro de Tionilo

Al usar el Cloruro de Tionilo, además de obtenerse el Cloruro de ácido, se obtiene  $\text{SO}_2$  y  $\text{HCl}$  que son gases y se desprenden con facilidad en la reacción. El exceso de cloruro de tionilo ( p.eb 79 C) se elimina por destilación. Los cloruros de ácido son compuestos muy reactivos y son empleados para preparar compuestos derivados de ácido.

### Conversión a ésteres

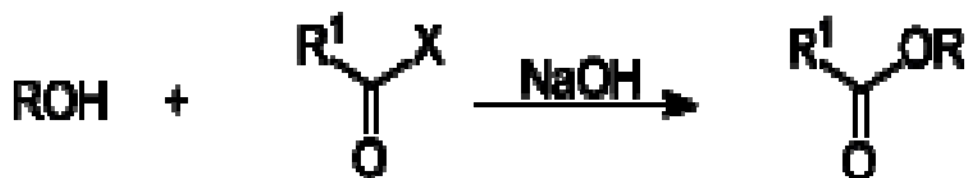
Los ácidos carboxílicos se convierten en ésteres por medio de los cloruros de ácido o cloruros de acilo de acuerdo al esquema de reacción que se muestra en la Figura 9.



**Figura 8.** Formación de ésteres vía cloruro de ácido

### Reacción Schotten-Baumann

Los fenoles reaccionan con cloruros de ácido para formar fenil-ésteres, en una solución alcalina (  $\text{NaOH}$ , Piridina ), que neutraliza el ácido clorhídrico ( $\text{HCl}$ ) desprendido. Esta reacción fue dada a conocer en 1883 por Carl Schotten y Eugen Baumann, por ello es conocida como la reacción de Schotten-Baumann.



**Figura 9.** Reacción de Schotten-Baumann

La síntesis del monoéster del triclosan se puede lograr por esterificación mediante la reacción de Schotten-Baumann, mediante la reacción del cloruro de adipoilo con triclosan en presencia de piridina o hidróxido de sodio. De esta manera la síntesis del diéster del triclosán a través del Cloruro de Adipoilo y triclosán, también ocurre mediante una reacción de Schotten-Baumann.

#### **Caracterización de los productos:**

Los productos obtenidos se pueden caracterizar mediante la aplicación de la Espectroscopia Infrarroja con Transformadas de Fourier (FTIR) y la medición de algunas propiedades físicas como o es el punto de fusión. Para la realización de los ensayos de caracterización por FTIR se utilizará un espectrofotómetro Spectrum One de Perkin Elmer que cuenta con aditamento de atenuación de reflectancia total (ATR), mientras que para la medición de puntos de fusión se utilizó un equipo Fisher Johns.

## **Técnica para la Espectrofotometría de FTIR**

Para llevar a cabo el análisis de caracterización por FTIR equipado con un ATR, la muestra sólida se coloca directamente la muestra sólida que previamente fue finamente molida. Antes de realizar el barrido el equipo es calibrado para evitar interferencias en la señal de respuesta.

La espectroscopia Infrarroja con transformadas de Fourier nos ayuda a:

- 1.- Caracterizar compuestos
- 2.- Nos da idea de que si un compuesto es una sustancia pura o una mezcla.
- 3.- Dar seguimiento en la síntesis de un compuesto.

Su principal utilización es la identificación de compuestos orgánicos, ya que teóricamente no existen dos diferentes que absorban exactamente en las mismas frecuencias, por ello la analogía con el término "Huella digital".

Cada grupo funcional tiene su banda de absorción en ciertas frecuencias, que corresponde con un movimiento de vibración de un enlace específico dentro de la molécula. El espectro es la huella del compuesto, nos proporciona información de los grupos funcionales presentes en la molécula.

Si un espectro no contiene el pico de absorción característico de un grupo funcional, la molécula no contiene dicho grupo.

### **Punto de Fusión**

Para medir el punto de fusión se usó un equipo Fisher Johns que cuenta con una platina de aluminio la cual se calienta por medio de una resistencia eléctrica. En esta platina va introducido transversalmente un termómetro con un rango de temperatura de 20 C a 300 C con intervalos de 1 C.

La muestra se coloca en el centro de los dos cubreobjetos de 18 mm de diámetro, para ser luego alojados en la depresión de la platina de aluminio. La temperatura es regulada por un transformador y un reóstato que tiene una escala de 0 a 100.

El punto de fusión se observa con la ayuda de un foco de iluminación situado a 45 grados de la platina y a cierta altura para iluminar la muestra completamente.

Arriba de la platina va montada un lente de aumento móvil, con la cual se ve cuando funde el sólido y se anota la temperatura a la cual ocurrió la fusión. Una vez obtenida la primera lectura del punto de fusión, se vuelve a determinar, calculando la velocidad óptima de calentamiento, de acuerdo a la siguiente fórmula de abajo.

$$\text{Velocidad de calentamiento} = Pf ( C ) / 4$$

## **Determinación del peso molecular por crioscopia**

Por medio del método de crioscopia (Del Griego kyros, frio, y skopein, examinar) se determina el peso molecular de compuestos disueltos en solventes puros. Se compara el punto de congelación del solvente puro , con el punto del congelación del solvente más el compuesto disuelto.

El punto de fusión (del solvente más el compuesto disuelto) medido es menor que el del solvente puro y a esta disminución se le conoce como descenso crioscópico que es una de las propiedades coligativas

### **Propiedades coligativas:**

Son las propiedades de una solución que dependen exclusivamente de la molalidad (concentración molal mol/kg), o sea de la cantidad de soluto, y no dependen del tipo de soluto o de la naturaleza del mismo (su naturaleza). Por lo que cualquier soluto, utilizando la misma cantidad de moles va a producir el mismo efecto.

Algunas propiedades coligativas son; disminución en la presión vapor, aumento en el punto de ebullición, cambio en la presión osmótica y descenso del punto de congelación.

El científico Raoult demostró que la disminución del punto de fusión es directamente proporcional a la cantidad del compuesto disuelto e inversamente proporcional al peso molecular del compuesto.

$$\Delta T_f = K_c \cdot m$$

- $m$  es la molalidad ( moles de soluto/ kilogramo de solvente ( mol/kg))
- $\Delta T_f$  es el la disminución del punto de fusión, es igual a  $T_s - T_{sc}$  donde  $T_s$  es la temperatura de fusión ( $^{\circ}\text{C}$ ) del solvente puro, y  $T_{sc}$  es la temperatura del solvente puro + el compuesto disuelto ( $^{\circ}\text{C}$ ).
- $K_c$  es la constante crioscópica ( $\text{g } ^{\circ}\text{C} / \text{mol}$ ).

Por lo que es posible calcular el peso molecular de un compuesto disuelto, tomando en cuenta la disminución del punto de fusión cuando una cantidad (peso) conocida de esta sustancia química es disuelta en una cantidad de solvente conocida (peso).

$$\text{PM} = K_c W_c 1000 / W_s (\Delta T)$$

Donde:

PM = peso molecular del compuesto disuelto

$K_c$  = Constante crioscópica del solvente

$W_c$  = peso del compuesto en gramos

$W_s$  = Peso del solvente en gramos



$\Delta T$  = Disminución del punto de congelación en grados Centígrados ( $T_s - T_{sc}$ ).

$T_s$  = punto de fusión del solvente puro en grados Centígrados.

$T_{sc}$  = punto de fusión del solvente puro más el compuesto disuelto en grados centígrados.

La constante crioscopia ( $K_c$ ) depende de las propiedades fisicoquímicas del solvente.

$$K_c = \Delta T W_s PM / W_c 1000$$

La constante crioscópica ( $K_c$ ) depende de las propiedades fisicoquímicas del solvente.

### **Halo de inhibición:**

Zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con un microorganismo. Es una medida de la potencia del antibiótico contra el microorganismo

Así que el halo es una área donde no hay desarrollo ( crecimiento ) de bacterias y/o colonias presentes y esta área depende de la concentración del antibacterial.

Las bacterias son sensibles a ciertos antibacteriales, por lo que no pueden reproducirse en la presencia de estos antibacteriales, por lo que no hay crecimiento de colonias y se forma un área en la que no hay crecimiento (un hueco) alrededor del antibacterial.

Los halos se miden, ya que no solo es suficiente saber que cierto antibacterial es sensible a cierta bacteria. Se necesita saber que no han crecido (cantidad), el antibacterial se aleja en el medio en el que se encuentra formando un gradiente de concentración (dilución) ,desde su ubicación (lugar donde esta) así que a mayor distancia menor concentración del antibacterial. Es decir a cierta distancia de la ubicación del antibacterial, no alcanza a inhibir el crecimiento del microorganismo, lo cual se nota visualmente, y este es el halo.

El tamaño del halo es proporcional a la potencia del antibacterial y inversamente proporcional a la concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del antibacterial. En años recientes por medios electrónicos se determina la CMI de cierto antibacterial a partir del halo de inhibición.

# **CAPITULO 3**

**MATERIALES Y**

**METODOLOGIA**

**EXPERIMENTAL**

### 3.1 Material, equipo y reactivos

#### A) Equipo y accesorios

- Espectrofotómetro Perkin Elmer Spectrum One FT-IR, con aditamento para atenuación de reflectancia total (ATR)
- Aparato para medir puntos de fusión Fisher Johns.
- Plato caliente con agitación.
- Balanza analítica.

#### B) Reactivos y Materiales

Los reactivos químicos utilizados son de pureza en grado analítico.

- Cloruro de Tionilo.
- Ácido adípico.
- Dimetil formamida.
- Triclosan.
- Hidróxido de sodio.
- Piridina.
- Hexano.
- Alcohol etílico.
- Agua destilada.
- Papel Filtro.
- Embudos de vidrio.
- Tubos de ensaye 24mm x 200 mm

- Termómetros
- Vasos de precipitados de vidrio ( 50,100,250,600,1000 ml )
- Vidrio de reloj
- Barras de agitación magnética
- Micro espátulas

## **3.2 Síntesis del mono y diéster del triclosan**

### **3.2.1. Cloruro de adipoilo.**

El cloruro de adipoilo es un producto intermedio para obtener el monoéster y diéster del ácido adípico del triclosan. Para ello se reaccionan el ácido adípico y cloruro de adipoilo en una relación molar ( 2:1 ) en presencia de dimetil formamida (DMF), colocados en un tubo de ensaye a una temperatura de 60 a 70 C en un baño de glicerina calentado con un plato caliente.

### **3.2.2. Obtención del monoéster de triclosan.**

Para la síntesis del monoéster de triclosan se preparó una solución de 50 ml de agua destilada con 22 ml de NaOH al 10 %. En esta solución se agregaron 1.98 g de triclosan y se mezcló a temperatura ambiente con agitación magnética, resultando una solución transparente. Posteriormente se agregaron 1.25 g de cloruro de tionilo bajo condiciones de agitación por 30 minutos, la solución desde un inicio se torna blanca y se forma un sólido. Posteriormente se recupera por decantación el sólido formado, luego se filtro y se recristalizó en etanol.

### **3.2.3. Preparación del diéster del triclosan.**

Para la síntesis del diéster de triclosan se preparó una solución con 100 ml de Hexano y 3.97 gramos de triclosan y se agitó a temperatura ambiente hasta que la disolución completa del triclosan. En este punto se añadieron 1.1 ml de piridina, mezclando bien y adicionando 1.25 gramos de cloruro de tionilo con agitación, tornándose la solución blanca para después tomar un aspecto transparente. La mezcla se dejó en agitación durante 30 minutos y se permitió evaporar al hexano a temperatura ambiente obteniendo un sólido que fue recristalizado con agua destilada a ebullición.

### **3.3. Caracterización fisicoquímica**

La caracterización fisicoquímica de los productos sintetizados se llevo a cabo realizando un análisis FTIR y la medición del punto de fusión en un equipo Fisher Johns.

La técnica de FTIR fue utilizada, ya que cada compuesto tiene en su espectro IR información de los grupos funcionales presentes en la molécula. Cuando se trata de un compuesto conocido, ya existe un espectro de referencia para comparación.

En el caso de esta investigación, no existen reportados los compuestos que se están sintetizando, por lo cual se partirá de la información proporcionada por los espectros FTIR's de las materias primas. Se espera que en los nuevos compuestos aparezcan señales que no existen en las materias primas ya que se forman nuevos grupos funcionales, y desaparecen otros.

En el caso de que aparezcan algunas señales de las materias primas, nos indica que la reacción fue incompleta, y es necesaria una purificación posterior para eliminar los residuos existentes. También nos puede indicar que el producto se contaminó con alguna de las materias primas usadas.

Se obtuvieron los espectros con la ayuda del software del equipo que a su vez nos permite hacer una comparación de los FTIR's obtenidos, usando bibliotecas electrónicas para comparación.

### **3.3.1. Determinación del peso molecular por crioscopia.**

A continuación se describen los procedimientos experimentales a seguir para determinar los pesos moleculares de solventes y compuestos derivados del triclosan sintetizados.

#### **A) Determinación de la constante Crioscópica del Benceno**

Se pesa en el tubo de ensaye una cantidad conocida de benceno y se sujeta con pinzas universales. Se pone hielo frapé en la hielera para evitar que se derrita y en el vaso de precipitados se agregan 2/3 partes de hielo frapé (hielo molido). Al tubo de ensaye que contiene benceno en el hielo frapé, se le coloca un termómetro sujetándolo con pinzas universales. Luego se toman lecturas de temperatura cada 30 segundos, hasta obtener varios valores constantes que corresponden al punto de fusión del benceno.

## **B) Determinación del peso molecular del triclosan**

Se pesa una cantidad conocida de triclosan, y se agrega al tubo de ensaye que contiene benceno (con el cual se determinó la constante crioscópica del benceno) previamente pesado. Se mezclan con agitación el triclosan y el benceno en un tubo de ensaye que ha sido sujetado con pinzas universales.

Se pone hielo frapé en la hielera para evitar que se derrita y en el vaso de precipitados se agregan 2/3 partes de hielo frapé (hielo molido). Al tubo de ensaye que contiene benceno y triclosan en el hielo frapé, se le coloca un termómetro sujetándolo con pinzas universales. Luego se toman lecturas de temperatura cada 30 segundos, hasta obtener varios valores constantes que corresponden al punto de fusión de la solución ( benceno + triclosan).

## **C) Determinación del peso molecular del diéster .**

Se pesa una cantidad conocida de diéster, y se agrega al tubo de ensaye que contiene benceno (con el cual se determinó la constante crioscópica del benceno) previamente pesado. Se mezclan con agitación el diéster y el benceno en un tubo de ensaye que ha sido sujetado con pinzas universales.

Se pone hielo frapé en la hielera para evitar que se derrita y en el vaso de precipitados se agregan 2/3 partes de hielo frapé (hielo molido). Al tubo de ensaye que contiene benceno y diéster en el hielo frapé, se le coloca un termómetro sujetándolo con pinzas universales. Luego se toman lecturas de



temperatura cada 30 segundos, hasta obtener varios valores constantes que corresponden al punto de fusión de la solución ( benceno + diester).

### **3.4.- Evaluación de la eficacia antimicrobial.**

#### **3.4.1.- Evaluación de eficiencia antimicrobial cualitativa.**

##### **a) Preparación de medios de cultivo**

El medio de cultivo se prepara utilizando medios liofilizados disponibles comercialmente. Para nuestro caso se utilizó un medio de agar nutritivo comercial de la marca Merck, con la siguiente composición en g/l: Extracto de carne 3.0, Peptona de carne 5.0, Agar-agar 12.0. El pH del medio preparado a 37 °C es de alrededor de 7.0.

Se preparó el gel en condiciones de esterilidad y se llenaron cajas de Petri donde se dejó solidificar al gel, para posteriormente guardarlas en refrigeración hasta que sean requeridas para inoculación de cepas bacterianas.

El material y equipo utilizados consistió en vasos de precipitados de 1000 ml, cajas de petri desechables y estériles, plato caliente con agitación, olla de presión, frasco de vidrio pírex, mechero de Bunsen, campana de extracción y refrigerador.

##### **b) Ensayos cualitativos:**

Las pruebas antibacteriales cualitativas se hicieron de acuerdo a la Norma AATCC 147-1998 (American Association of Textile Chemist and Colorists). Es una prueba simple de llevar a cabo. En esta prueba el microorganismo *Staphylococcus*

*aureus* (gram positivo), es inoculado en 5 líneas paralelas separadas 1 centímetro en una caja Petri con Agar Nutritivo antes preparado.

Por separado se prepara la tela conteniendo cierto porcentaje del agente antibacterial a evaluar, a partir de una solución de dicho agente. Se corta un rectángulo de 25 x 50 mm de la tela (tergal 70 % poliéster, 30 % algodón). El rectángulo de tela se coloca sobre el medio de cultivo (agar nutritivo) presionando ligeramente en diversos zonas de la tela para favorecer el contacto íntimo entre la tela y el medio de cultivo.

Las cajas Petri son incubadas a 37 °C de 18-24 horas y después es examinado el contorno de la tela y se mide la longitud de halo de inhibición en cada una de las 5 líneas paralelas inoculadas.

Se hizo una prueba de la tela sin agente antibacterial y se comprobó que la tela no contiene antibacteriales, ya que no se presentó halo de inhibición. Tanto el Triclosan como el mono éster y diester se observan halos de inhibición muy similares entre si.

#### **3.4.2.- Evaluación de eficiencia antimicrobial cuantitativa.**

Se toma una azada de un colonia de *Staphylococcus aureus* y se pone en un tubo de ensaye con tapa roscada conteniendo 10 ml de solución de fosfato, se agita y de ahí se toma 1 ml de esta solución con una pipeta graduada, y se agrega a un

tubo de ensaye con tapa roscada conteniendo 10ml de solución de fosfato y se hace los mismo una tercera y cuarta vez.

En la cuarta vez se toma un mililitro de la solución, y se pone en una caja Petri, Se coloca un pedazo de tela 7x30 mm en el tubo de ensaye y se tapa y agita con la tela, se toma 1 mililitro de la solución a un tiempo 0 minutos y otro mililitro a un tiempo de 5 minutos.

Se ponen en cajas Petri, se les agregará Agar nutritivo y se agitan en sentido de las manecillas del reloj y en sentido opuesto 7 veces y en forma vertical ascendiente y descendiente 7 veces, con la finalidad de lograr una distribución homogénea de la solución. a que al medio de cultivo solidifique y se pone en la estufa a 37 °C por 18-24 horas.

Después de hace un conteo de colonias tanto del blanco como de la tela a 0 y 5 minutos.

### **3.5. Medición del halo de inhibición**

Los halos se miden, ya que no solo es suficiente saber que cierto antibacterial es sensible a cierta bacteria. Se necesita saber que no han crecido ( cantidad ), el antibacterial se aleja en el medio en el que se encuentra formando un gradiente de concentración ( dilución ) ,desde su ubicación (lugar donde esta) así que a mayor distancia menor concentración del antibacterial. Es decir a cierta distancia de la

ubicación del antibacterial, no alcanza a inhibir el crecimiento del microorganismo, lo cual se nota visualmente, y este es el halo.

El tamaño del halo es proporcional a la potencia del antibacterial y inversamente proporcional a la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del antibacterial. En años recientes por medios electrónicos se determina la CMI de cierto antibacterial a partir del halo de inhibición.

Para conocer la CMI se usa una dilución en tubos de ensaye:

Se parte de una dilución de concentración conocida de unidades formadoras de colonia /ml (UFC), luego se inocula una serie de tubos que contienen una cantidad de concentración creciente del antibacterial.

El juego de tubos se incuba a 35 °C de 20 a 24 horas. La CMI será la concentración en el primer tubo que no haya crecimiento (tubo transparente) el tubo no debe estar turbio. El antibacterial para esta prueba debe ser soluble en solución acuosa. Si no lo es, se tiene que poner en un medio inerte (tela o papel) a diferentes concentraciones conocidas, y hacer un conteo de colonias inicial y poner el antibacterial en el tubo de ensaye y a cierto tiempo tomar una muestra incubar y hacer el conteo de colonias final.

Ciertos antibacteriales no se difunden por ejemplo el Quitosan, que actúa solo en el área que ocupa. Y su duración es mayor que los antibacteriales que

presentación difusión, ya que la concentración inicial del antibacterial va disminuyendo con la dilución debido a la difusión en el medio que se encuentra (medio de cultivo)

# **CAPITULO 4**

## **RESULTADOS Y**

## **DISCUSIONES**

#### 4.1. Síntesis de intermediarios y ésteres del triclosan.

Se sintetizaron el cloruro de adipoilo, el monoéster y el diéster del ácido adípico del Triclosán, siguiendo los procedimientos de síntesis establecidos en el capítulo 3.

##### 4.1.1.- Síntesis del cloruro de adipoilo

La síntesis del Cloruro de Adipoilo, se realizó de acuerdo a la reacción que se muestra en la Figura 11.

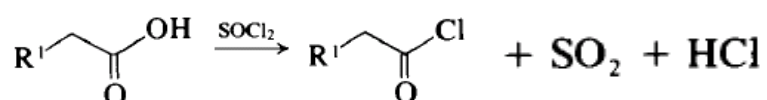


Figura 10. Reacción Cloruro de Acido

Para llevar a cabo la reacción de síntesis del cloruro de adipoilo, se utilizó una relación molar ácido adípico - cloruro de tionilo (AA/CT) de 1:0.49 y como catalizador se utilizó dimetilformamida (DMF). La reacción se realizó en un tubo de ensaye a una temperatura de 60 a 70 °C y un tiempo de una hora.

##### 4.1.2.- Síntesis de ésteres del triclosan

La síntesis del mono éster fue llevada a cabo en un vaso de precipitados donde fueron colocados cloruro de adipoilo (CA) y triclosan (TCS) en una relación molar CA/TCS de 2:1 disueltos en hexano y agregando piridina como catalizador. La

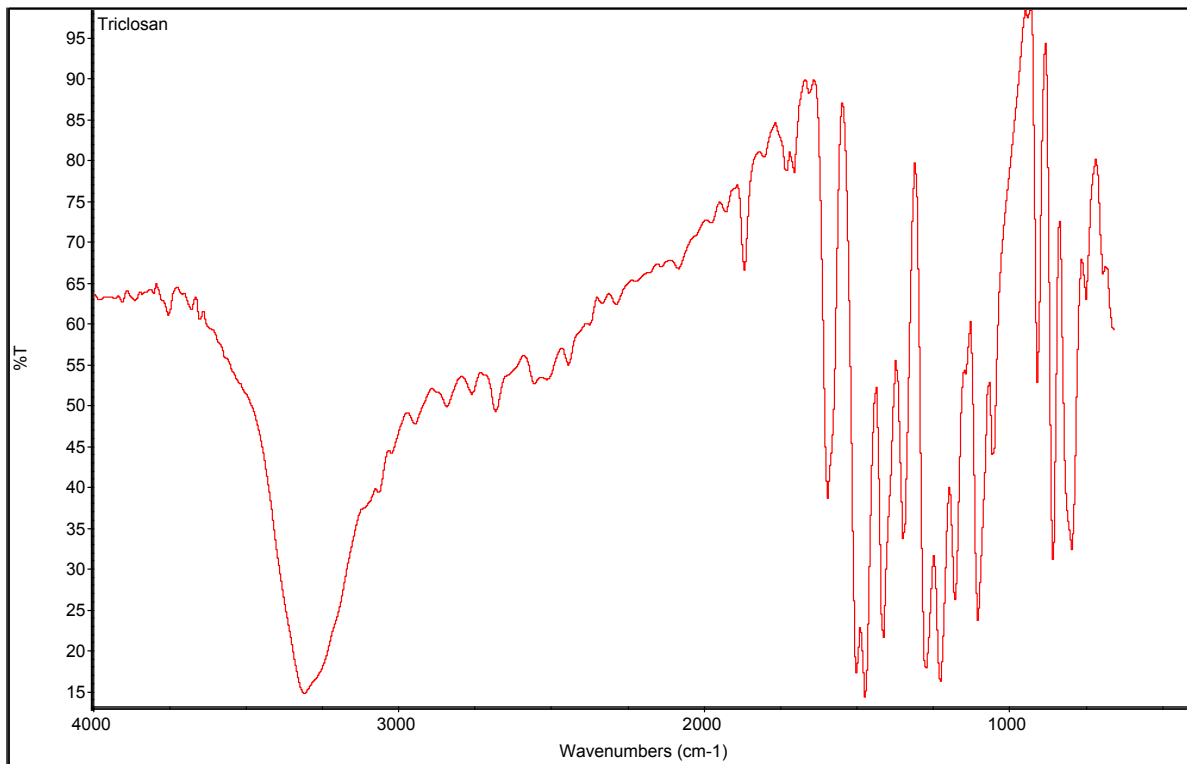
reacción se realizó a temperatura ambiente durante media hora. La estructura del derivado Triclosán Monosustituido se muestra en la Figura 3.

Las condiciones de reacción para la obtención del diéster a través de la ruta de síntesis planteada consistieron en utilizar una relación molar 1:1 de CA/TCS, que fueron colocados en una solución alcalina compuesta de hidróxido de sodio en agua destilada que actuó como catalizador. La temperatura de la reacción fue la del ambiente y el tiempo de media hora.

La estructura del Derivado Triclosán Disustituido se muestra en la Figura 4.

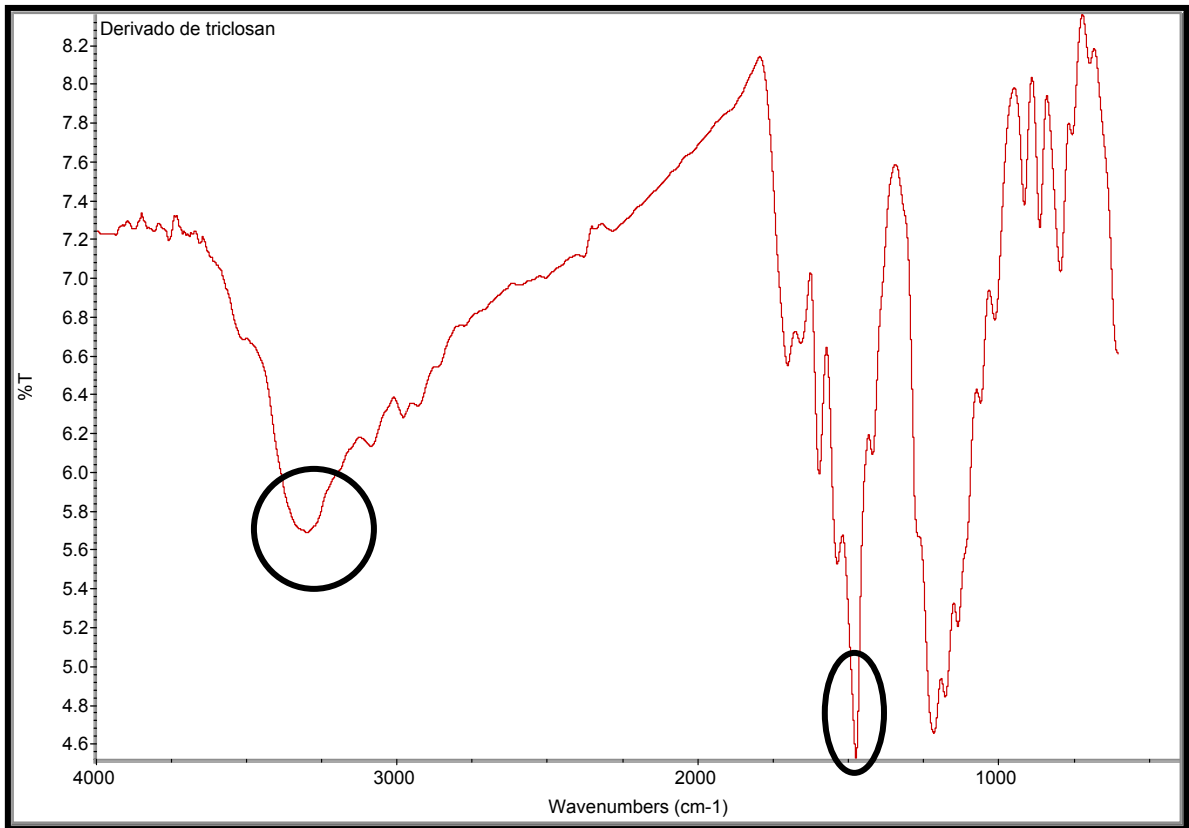
En la Fig. 12, se muestra el espectro FTIR del Triclosán que fué tomado como referencia para compararlo con los productos de la reacción. Se puede apreciar la señal a 3250  $\text{cm}^{-1}$ , característica del grupo fenólico del triclosán.



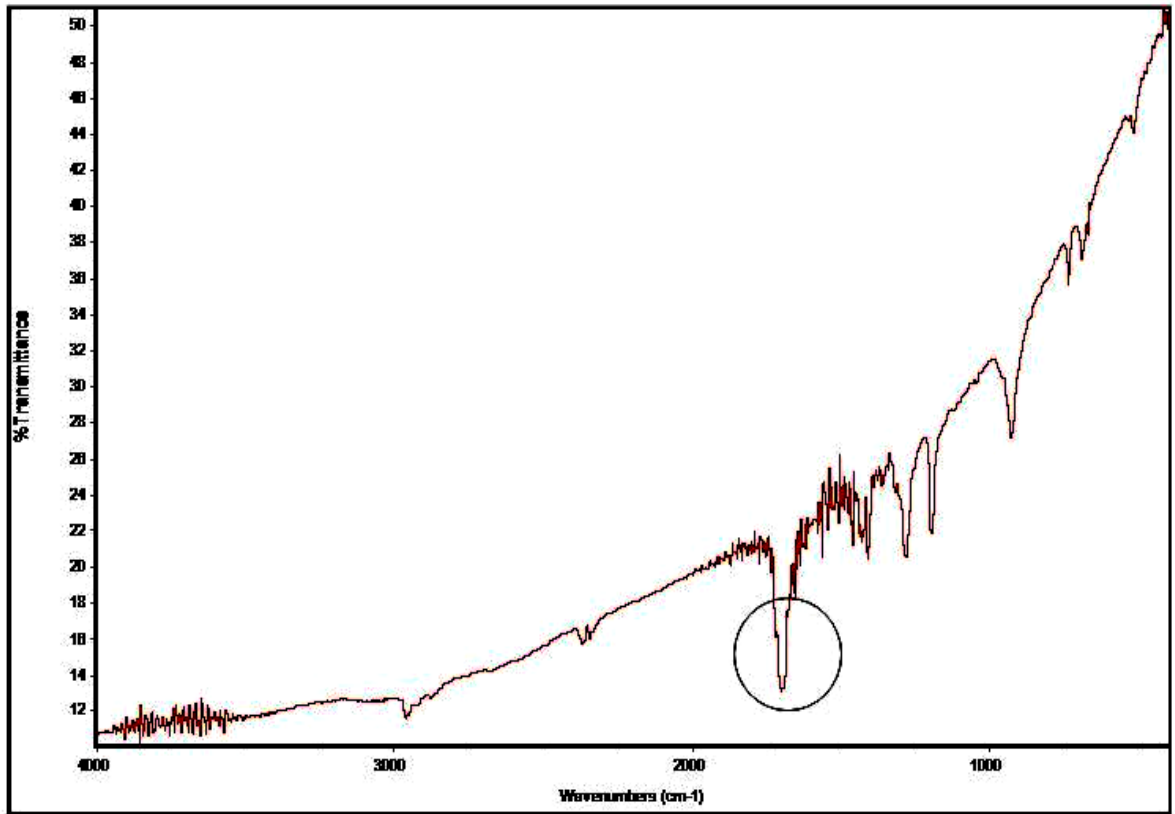


**Figura 11.** Espectro FTIR Triclosán, se pueden observar las señales características del Difenil éter: 1060-1150 y del grupo OH en 3650.

En las Figuras 13 y 14, se presentan los espectros de FTIR de los productos obtenidos. En ambas se puede observar la señal a 1650 cm<sup>-1</sup> del grupo C=O característico del éster y solo en el caso del monoéster, se aprecia la señal a 3400 cm<sup>-1</sup> del grupo –OH.



**Figura 12.** Espectro de FTIR del mono éster de triclosan



**Figura 13.** Espectros de FTIR del diéster de triclosan

Para los derivados Mono y Di substituidos se hizo la prueba con bicarbonato de sodio; se formaron burbujas con el derivado Mono substituido, esta prueba es para ver la presencia de ácidos carboxílicos. Las burbujas formadas se deben a la formación del ácido carbónico que por ser inestable se descompone desprendiendo CO<sub>2</sub>.

#### **4.2.- Resultados de medición de puntos de fusión.**

Los resultados de los puntos de fusión de los esteres sintetizados fueron los siguientes:

El punto de fusión Mono éster = 154 °C

El punto de fusión Di éster = 97 °C

Para los fines de esta investigación el valor de punto de fusión es muy importante, no solo porque se trate de caracterizar compuestos no reportados en la literatura, sino porque nos permite pensar en el tipo de aplicación al que se puede orientar, es decir, permite enfocar su uso.

Por ejemplo si el punto de fusión es alto se puede emplear mezclado con polímeros termoplásticos. Para las posibles aplicaciones como aditivo en textiles, esta característica nos podría dar una significativa ventaja, dadas las posibilidades de trabajar con una mayor diversidad de fibras no solo naturales, sino también sintéticas.

#### 4.3.- Determinación del peso molecular por crioscopia.

Los resultados de a determinación del peso molecular fueron los siguientes:

Constante crioscópica del benceno: 5.2994 g °C / mol

Punto de fusión benceno: 5.2 °C

Punto de fusión Benceno + Triclosan = 4.3 °C

Punto de fusión Benceno + Diester = 5.14 °C

Pesos moleculares obtenidos:

Compuesto	Peso molecular Teórico	Peso molecular por crioscopia
Triclosan	289.5	289.9
Diester	689.1	708.61

#### 4.4. Evaluación de la eficacia antimicrobial.

Se hizo una prueba de la tela sin agente antibacterial y se comprobó que la tela no contiene antibacteriales, ya que no se presentó halo de inhibición. Tanto el Triclosan como el mono éster y diester se observan halos de inhibición muy similares entre sí.

Inicialmente se hicieron pruebas cualitativas con concentraciones de 0.5 %, 0.9 % y 1.2 % en peso (clasificadas como baja, media y alta). En estas concentraciones se obtuvieron halos de inhibición (mm) en el blanco, que no debería presentar halo de inhibición, sin embargo, si fue posible medir una zona de alteración de un 35 % en comparación con los halos generados por los biocidas.

En las muestras son muy similares los halos de inhibición como se puede observar en la Tabla 2, aunque también se reporto lectura para el blanco.

Tabla 2. Resultados de halo de inhibición en ensayos cualitativos con concentraciones de 0.5 %, 0.9 % y 1.2 % en peso.

Muestra	Baja ( 0.5 %)	Media (0.9 %)	Alta (1.2 %)
Blanco	8.05 (mm)		
Triclosan	18.4	18.4	18.75
Monoester	18.05	18.4	14.45
Diester	18.1	16.85	18.9

Se tuvo contaminación al cortar las muestras, por lo que se intuye que el halo obtenido está relacionado con dicha contaminación que indujo el efecto del agente antibacterial.

Se realizaron pruebas con Triclosan, Monoester y Diester a una concentración de 0.2 %, 0.4% y 0.6 % en peso, incluyendo una muestra de 0.1% para el triclosan y cuidando que no hubiera contaminación en las muestras. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados de halo de inhibición en ensayos cualitativos con concentraciones de 0.5 %, 0.4 % y 0.6 % en peso

	TRICLOSAN	MONOESTER	DIESTER
CONCENTRACION	HALO DE INHIBICION PROMEDIO mm		
0.1%	1.10		
0.2%	27.6	11.5	9.2
0.4%	27.6	11.8	11.0
0.6%	27.6	10.2	12.8

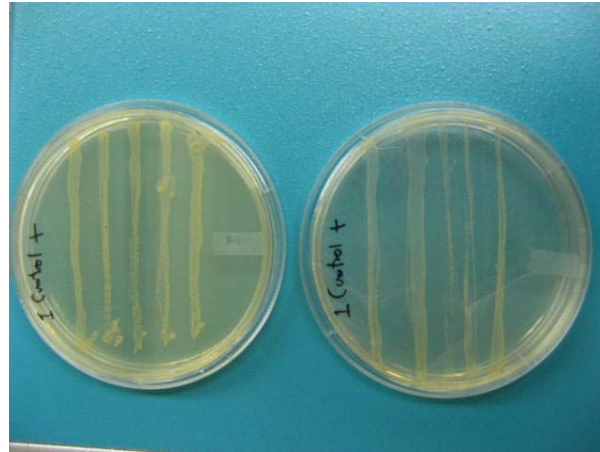
Los detalles del monitoreo de eficiencia biocida por halos de inhibición, para las tres distintas moléculas y tres diferentes concentraciones, se muestra en la secuencia grafica de las figuras 15 a la 25.

Se esperaría lo siguiente:

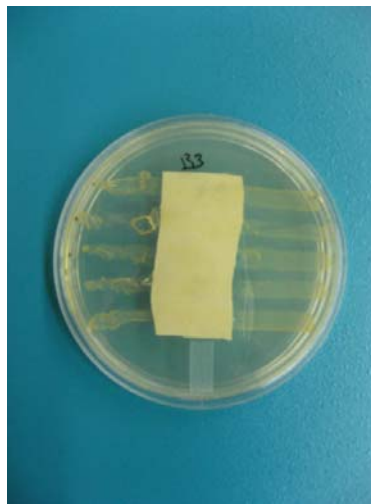
- a) Que el halo de inhibición sea mayor al aumentar la concentración ,
- b) Que el halo de inhibición sea menor al aumentar el punto de fusión

Solo las concentración de 0.2% y 0.4 % concuerdan con estos argumentos, sin embargo, por ser esta una prueba cualitativa en la cual se toma una azada y se siembra una línea en la caja de Petri, significa que no se puede determinar que siempre sea la misma cantidad de unidades formadoras de colonia (UFC). Es posible que no exista una relación adecuada entre la concentración del agente antibacterial y el halo de inhibición, porque la cantidad de colonias es diferente en cada línea y en cada caja. Con ello se puede esperar también como una

consecuencia lógica que no se mantenga una tendencia esperada para el valor de 0.6%.

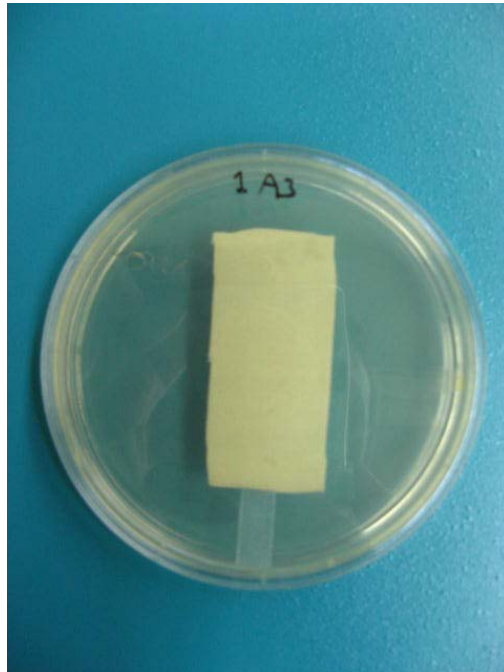


**Figura 15.** Cajas de Petri con cultivo de control donde se ve el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

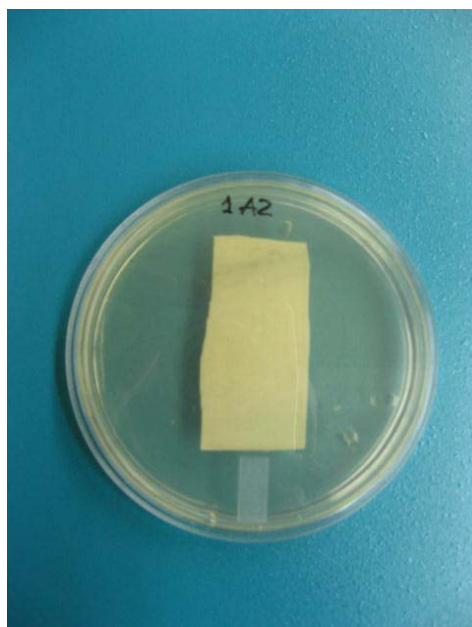


**Figura 16.** Caja Petri tela de control donde se observa que no hay halo de inhibición y si crecimiento continuo en cada línea de colonias de *staphylococcus aureus*.

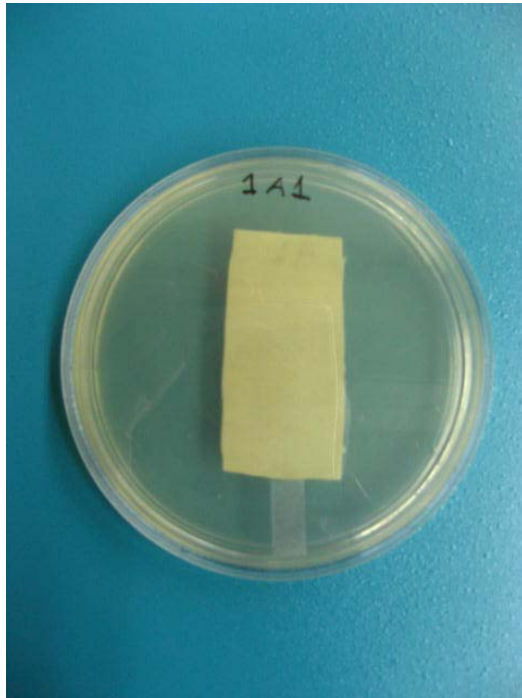




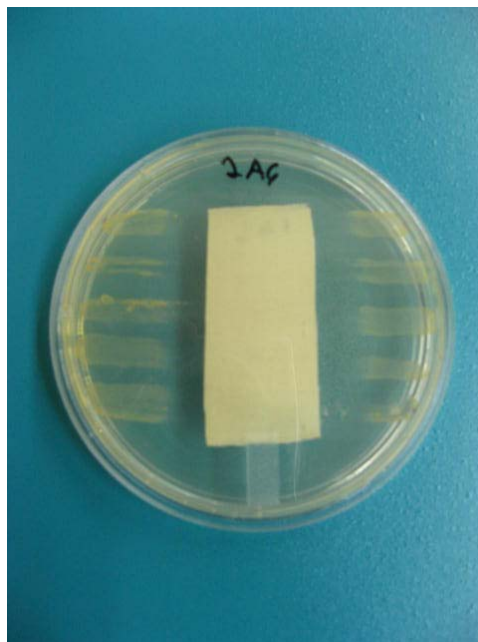
**Figura 17.** Caja de Petri tela con 0.2 % de triclosan.



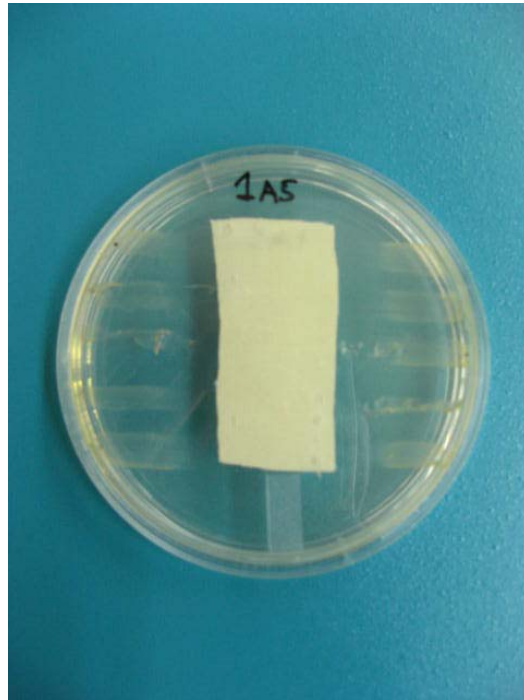
**Figura 18.** Caja de Petri tela con 0.4 % de triclosan.



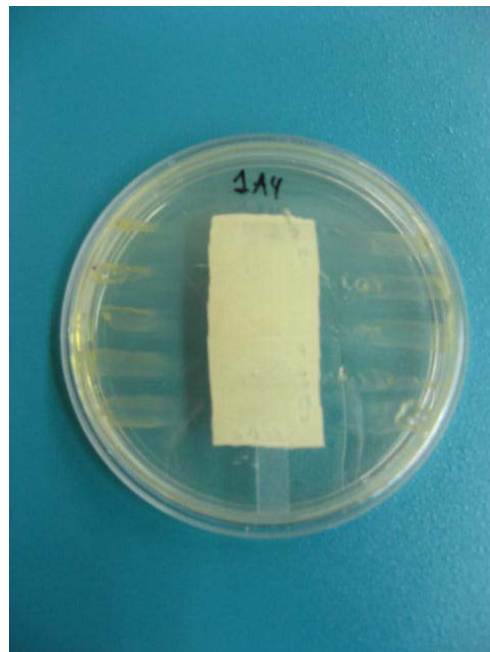
**Figura 19.** Caja de Petri tela con 0.6 % de triclosan.



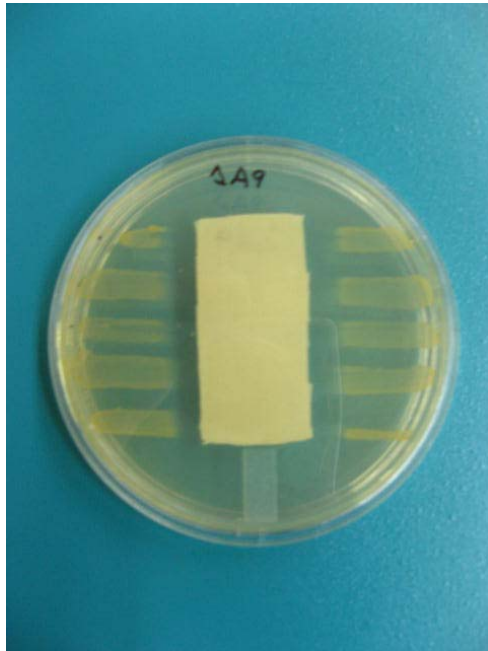
**Figura 20.** Caja de Petri tela con 0.2 % de monoester de triclosan.



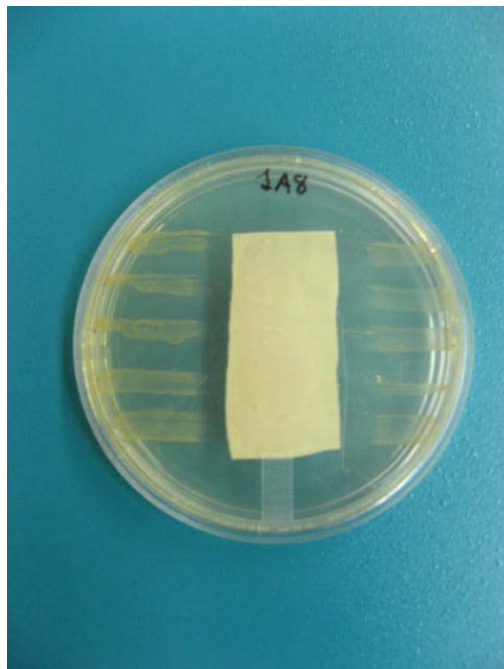
**Figura 21.** Caja de Petri tela con 0.4 % de monoéster de triclosan.



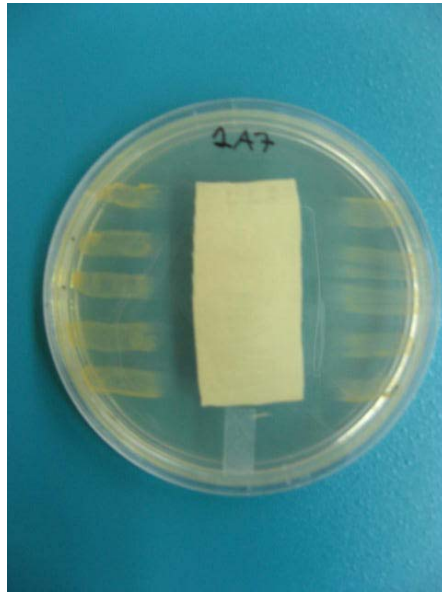
**Figura 22.** Caja de Petri tela con 0.6 % de monoéster de triclosan.



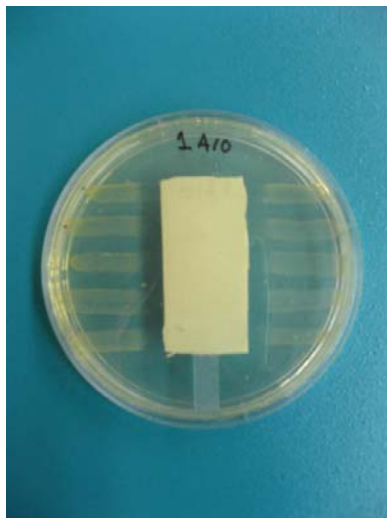
**Figura 23.** Caja de Petri tela con 0.2 % de diéster de triclosan.



**Figura 24.** Caja de Petri tela con 0.4 % de diéster de triclosan.



**Figura 25.** Caja de Petri tela con 0.6 % de diéster de triclosan.



**Figura 26.** Caja Petri tela 0.1 % triclosan a esta concentración el halo de inhibición no es completo.

# CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES

- Se diseñaron y utilizaron dos rutas de síntesis para obtener los derivados del Ácido Adípico del triclosán.
- Se obtuvieron resultados satisfactorios reaccionando el Cloruro de Adipilo con triclosán, teniendo como productos el mono- y di- ester de acuerdo a lo siguiente:
  - Por la Reacción de Schotten-Bauman (1) se obtuvo el derivado Mono-sustituido Pf 154 °C .
  - Por la Reacción de Schotten-Bauman (1) se obtuvo el derivado disustituido Pf 97 °C.
- Ante esta prueba cualitativa los 3 compuestos ( triclosan, mono-ester y diester presentan actividad antibacterial
- El halo de inhibición debe aumentar con la concentración y debería aumentar al disminuir el punto de fusión.
- Se observa que el halo de inhibición es menor al aumentar el punto de fusión. Por lo que la difusión en el agar es menor.
- Con el triclosan hay inhibición total en 0.2%, 0.4 % y 0.6 % de concentración. Con 0.1 % de concentración de triclosan la inhibición es menor
- Con el monoéster la zona de inhibición (mm) aumenta al aumentar la concentración de 0.2 % a 0.4 %.
- Con el diéster la zona de inhibición (mm) aumenta al aumentar la concentración de 0.2 % a 0.4 %.

# **BIBLIOGRAFIA**



## BIBLIOGRAFIA:

1. Schotten, C. (1884). Ueber die Oxydation des Piperidins. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 17, 2544
2. Baumann, E. (1886). Ueber eine einfache Methode der Darstellung von Benzoësäureäthern. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 19, 3218.
3. O'Lenick, A. J. (2002). *Silicone functionalized triclosan*. U.S. Patent No. 6384173B1. Washington, DC: U.S. Patent and trademark office.
4. Shulong, Li (2001). *Esterified Triclosan Derivatives as improved textile antimicrobial agents*. U.S. Patent No. 6197072B1. Washington, DC: U.S. Patent and trademark office.
5. Rusell, J., Stevenson, A.J. (1985). Process for making esters. EP 0158499 A2. Munich, La Haya, Berlín, Viena: European Patent Office.
6. Enrile de Rojas, F.J., Santos-Aleman, A. (2005). Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. *RCOE*, 10 (4), 445-452. doi: 10.4321/S1138-123X2005000400006.
7. Marsh, P. D. (1992). Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. *Journal of dental research*, 71, 1431-1438.
8. Shulong, Li (2001). Fabrics comprising fibers having esterified triclosan derivatives diffused therein. U.S. Patent No. 6299651B1. Washington, DC: U.S. Patent and trademark office.
9. Kim, J.C., Song, M.E., Lee, E.J., Park, S.K., Rang, M.J., Ahn, H.J. (2001). Preparation and characterization of triclosan-containing microcapsules by

- complex coaceration. *Journal of dispersion science and technology*, 22 (6), 591-596
10. Mishra, S., Karmodiya, K., Parasuraman, P., Surolia, A., Surolia, N. (2008). Design, synthesis, and application of novel triclosan produgs as potential antimalarial and antibacterial agents. *Bioorganic & Medical Chemistry*, 16 (10), 5536-5546.
  11. Zhang, G. (2002). Barrera antiadherente de ácido hialurónico. Patente europea 00965568.9. Madrid, España: Oficina española de patentes y marcas.
  12. Katime, I. (2009). Síntesis y polimerización radical de algunos derivados del ácido itacónico. *Revista Iberoamericana de polímeros*, 10 (3), 131-142.
  13. Freundlich, J.S., Wang, F., Vilcheze, C., Gulten, G., Langle, R., Schiehsler, G.A., Jacobus, D.P., Jacobs, W. R., Sacchetti, J.C. (2009). Triclosan derivatives: towards potent inhibitors of drug-sensitive and drug-resistant mycobacterium tuberculosis, *ChemMedChem* 4, 241-248.
  14. Pastor-Sánchez R. Alteraciones del nicho ecológico. Resistencias bacterianas a los antibióticos. *Gac Sanit.* 2006; 20(Supl 1):175-81.
  15. Baos V, Barbero A, Diogène E, Eguilleor A, Eyaralar T, Ibañez J, Mediavilla A, Mora I, Palop V, Pastor Sánchez R, et al. Documento de consenso sobre la utilización de antibióticos en atención primaria. *Aten Primaria.* 2006; 38(3):174-7.
  16. Cirz RT, Chin JK, Andes DR, de Crécy-Lagard V, Craig WA, Romesberg FE (2005). «Inhibition of mutation and combating the evolution of antibiotic resistance». *PLoS Biol.* 3 (6): pp. e176.

17. Satyendra Mishra, Krishanpal Karmodiya, Prasanna Parasuraman, Avadhesh Suroliya, and Namita Suroliya, Design, synthesis, and application of novel triclosan produgs as potential antimalarial and antibacterial agents. *Bioorganic & Medical Chemistry* 16 (2008) 5536-5546.
18. C. Schotten, *Ber.* 17, 2544 (1884); E. Baumann, *ibid.* 19, 3218 (1886).
19. Singer H; Muller S; Tixier C; Pillonel L(2002)«Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments» *Environ Sci Technol.* Vol. 36.n. 23. p. 4998–5004.
20. Triclosan: A review of effectiveness and safety in health care settings. Jones, R. *AJIC Am J Infect Control* 2000;28: 184-96
21. Li, Shulong. Esterified Triclosan Derivatives as improved textile antimicrobial agents pat no: WO9942650.
22. Guideline for Prevention of Surgical Site Infection, 1999. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR, the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 247-280.
23. Levy. *Nature* 398, 383 - 384 (1999); Doi: 10.1038/18803. Molecular basis of triclosan activity.
24. Fan F. Defining and combating the mechanisms of triclosan resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*. 46(11):3343-7, 2002 .
25. Suller MT. Russell AD. Triclosan and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 46(1):11-8, 2000.

26.O'Lenick Anthony J. (Siltech LLC) UNITED STATES PATENT AND  
TRADEMARK OFFICE GRANTED PATENT , May 2002 pat No: US638417.

# **GLOSARIO**

## GLOSARIO

1. **Agente esterilizante:** Produce la muerte total de todas las formas de vida microbiana.
2. **Antibacterial:** Todo lo que destruye a las bacterias o suprime su crecimiento o Capacidad de reproducción, ejemplo: calor, antibióticos
3. **Antibiograma:** Prueba microbiológica que se efectúa para determinar la sensibilidad de una colonia de bacterias a un antibiótico.
4. **Antibiótico:** Sustancia química producida por los seres vivos o derivados de estas sustancias, que en bajas concentraciones mata o inhibe el crecimiento de bacterias.
5. **Antimicótico:** Sustancia que mata o inhibe el crecimiento de hongos.
6. **Antimicrobial:** Sustancia que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos como bacterias, hongos y protozoarios.
7. **Antiséptico:** Son biocidas o sustancias químicas que se aplican sobre tejidos vivos, para destruir o inhibir el crecimiento de microorganismos.

8. **Bactericida:** Sustancia química que destruye formas vegetativas bacterianas.
9. **Bacteriostático:** Sustancia química que inhibe el crecimiento de las bacterias pero no necesariamente las mata.
10. **Biocida:** Agente químico que tiene actividad desinfectante o antiséptica de amplio espectro que inactiva (mata) microorganismos.
11. **Desinfectante:** Sustancia química que se aplica sobre superficies inertes para destruir microorganismos, y prevenir infecciones, se pueden usar para desinfectar la piel y tejidos antes de la cirugía.
12. **Desodorizante:** Sustancia aplicada al cuerpo principalmente en las axilas para reducir el olor causado por la interrupción bacteriana de la transpiración.
13. **Desodorante:** Sustancia aplicada que previene el olor y reducen el sudor producido por las partes del cuerpo.
14. **Detergente:** Cualquier sustancia que tiene propiedades de disolver a otra sustancia (suciedad o las impurezas de una superficie) agregando la sustancia disuelta en la sustancia detergente inicial.

15. **Enzima:** Son compuestos de proteínas que actúan como catalizador de reacciones químicas.
16. **Efecto Bacteriostático (antiséptico bacteriostático):** Es aquel que impide la reproducción de una bacteria, que muere sin dejar descendencia.
17. **Efecto bactericida (antiséptico germicida, antibacterial):** Es aquel que produce la muerte de una bacteria
18. **Fungicida:** Sustancia química que destruye mohos y esporas.
19. **Germen:** El término germen se refiere a bacterias, hongos, protozoarios y virus que pueden provocar enfermedades:
20. **Germicida:** Sustancia química que mata los microorganismos patógenos (gérmenes).
21. **Hongos:** Los hongos son un reino de seres vivos unicelulares o pluricelulares que no forman tejidos y cuyas células se agrupan formando un cuerpo filamentosos muy ramificado.
22. **Levaduras:** Son hongos microscópicos, unicelulares.



23.**Microencapsulación:** Proceso de recubrimiento con materiales de naturaleza diversa, de sustancias en forma de partículas de tamaño micrométrico.

24.**Moho:** Hongo que se encuentra al aire libre como en interiores.

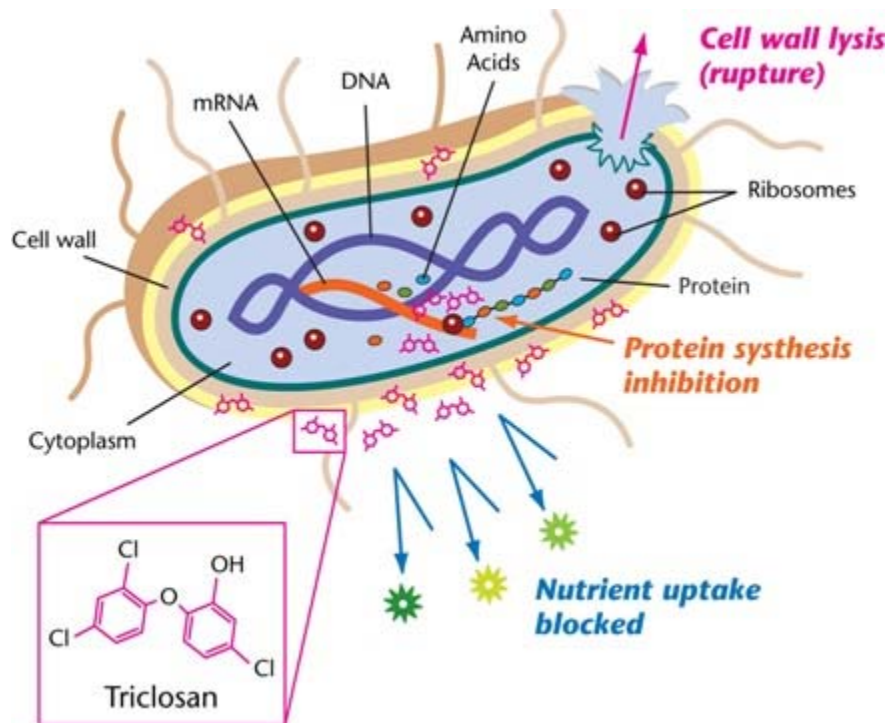
25.**Plásticos:** Cierta tipo de material sintético obtenido por polimerización de compuestos orgánicos derivados del petróleo así como de compuestos naturales.

26.**Proteínas:** Son macromoléculas formadas por cadenas de aminoácidos.

27.**Sanitización:** Aplicación de un método o sustancia química, sobre una superficie limpia para destruir microorganismos patógenos, este tratamiento no ataca la superficie, el producto, ni la salud de la gente.

28.**Soluciones limpiadoras:** Eliminan residuos o sustancias de desecho en piel sana o heridas.

# **ANEXO A**



**Esquema de actividad del Triclosan en un micro-organismo**

# **ANEXO B**