



**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE MEXICO**

---

---

**CAMPUS CHAPULTEPEC**

**ESCUELA DE QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO  
INCORPORADA A UNAM**

**“APLICACIÓN DE LA QUÍMICA VERDE EN LA  
OBTENCIÓN DEL ÁCIDO CARMÍNICO A PARTIR  
DE LA GRANA COCHINILLA Y LA FORMACIÓN  
DE UN DERIVADO ACETILADO LIPOSOLUBLE”**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA  
P R E S E N T A:  
MIRIAM IVETT HERNÁNDEZ TORRES**

**DIR. DE TESIS: M. EN C. AGUSTÍN PALMA DE LA CRUZ**

**MÉXICO, D.F.**

**2007**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO**

**PRESIDENTE:** M. en C. Agustín Palma de la Cruz.

**VOCAL:** M. en C. Javier Alfredo Carballo Perea.

**SECRETARIO:** M. en C. Isidro Hinojosa López.

**1er. SUPLENTE:** M. en C. Patricia Melchor Macías

**2do. SUPLENTE:** M. en C. Juan Antonio Giménez Scherer.

### **SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA DE TESIS.**

LABORATORIO 110, EDIFICIO B, FACULTAD DE QUIMICA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

**DIRECTOR DE TESIS.**

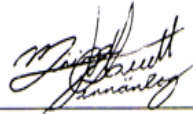
M. en C. Agustín Palma de la Cruz.



---

**SUSTENTANTE.**

Miriam Ivett Hernández Torres



---

**México, D.F.**

**2007**

## *Agradecimientos:*

### *A Dios:*

*Por darme una vida llena de salud, de alegría, por regalarme las fuerzas para enfrentar retos; por guiarme a las respuestas mientras más dudas tengo.*

*Por enseñarme que siempre está conmigo y me dió la vida para disfrutarla y enseñarme que no hay nada que temer porque la meta es el cielo!*

### *A mis Padres:*

*Por ser los seres humanos más grandiosos de toda la tierra, por su incondicional apoyo, por ser mis consejeros y mejores amigos, por darme lo mejor de ustedes.*

*Mamá gracias por tus acertados consejos, por todas tus oraciones durante toda mi carrera y durante toda mi vida, por ser la triunfadora que me enseñó que las metas se consiguen y los sueños se alcanzan con fe, voluntad y amor. Eres la mujer que más quiero, admiro y respeto.*

*Papá gracias por enseñarme a ser la número uno, la mejor y desearme que Dios me bendiga todas las mañanas de mi vida, tú me enseñaste que los retos son para enfrentarlos y que se hicieron para la gente triunfadora. Gracias por ser el triunfador que me enseñó el camino para llegar hasta donde he llegado. Eres el hombre que más quiero, admiro y respeto.*

### *A mi Hermana:*

*Gracias por ser mi mejor amiga de toda la vida, gracias por tu apoyo y consejos, por cantarme en las noches cuando más estresada estaba, siempre has sido mi ejemplo a seguir y solo me resta decirte que ojala llegue a ser tan grande como tú. Eres un Ángel!*

### *A mis Abuelitos:*

*A todos ellos por ser tan maravillosos, Abuelita Bety gracias, Abuelito Carlos Torres mil gracias por enseñarme que las cosas difíciles las puedo hacer fácil y que las imposibles me tardo un poquito, Gracias Abuelita Anita, Gracias Abuelito Carlos Hernández.*

## *A mi Cuñado:*

*Gracias por tus consejos, apoyo y amistad. Por el tip del cereal junto a la computadora para soportar las desveladas de la Tesis.*

## *A mis Profesores:*

*Gracias profesor Agustín por todo su apoyo, por sus consejos durante toda la carrera. Por ser ese GENIO que nos regalo la vida y una maravillosa persona.*

*Dr. Miguel Saloma, gracias por el apoyo y prestarme las instalaciones del laboratorio de posgrado de electroquímica de la UNAM.*

*Gracias profesor Isidro, por todo lo que me enseñó, por ser una excelente persona que demuestra a sus alumnos que la escuela es el comienzo de una serie de retos y nos da las herramientas para enfrentarlos.*

*Gracias profesor Carballo, por su singular alegría, por ser una gran ser humano y un gran profesor del cual he aprendido mucho.*

*Gracias a todos mis profesores por enseñar tantas cosas todos son unos seres humanos excepcionales.*

## *A mis Tíos y Primos:*

*Gracias por formar parte de mi vida de todos he aprendido mucho los quiero y los admiro.*

## *A mis Amigos:*

*Gracias por estar ahí y seguir a mi lado, gracias por entenderme y apoyarme.*

*Gracias **Sock** por tu agradable compañía en los días más estresantes de la carrera, por hacerme tan feliz, eres un amiguito excepcional.*

*Y Muchísimas Gracias en especial a ti **Luis Díaz**, gracias por ser esa personita que me daba ánimos, que me apoyó en todas mis locuras, por ayudarme tanto desde que inicie mi servicio hasta que concluí mi tesis, por estar siempre ahí, sabes que te quiero mucho!*

**GRACIAS DIOS POR DARME UNA MARAVILLOSA FAMILIA, EXCELENTES MAESTROS Y VERDADEROS AMIGOS, LOS QUIERE MIRIAM!**

## ÍNDICE

	Pág.
<b>1. Introducción.</b>	2
<b>2. Antecedentes.</b>	4
2.1    Herramientas y aplicaciones de la química verde.	5
2.2.    Breve reseña histórica del ácido carmínico.	14
2.3    Aplicaciones médicas del ácido carmínico.	16
2.4    Colorantes.	18
<b>3. Objetivos.</b>	21
3.1    Objetivos generales.	22
3.2    Objetivos particulares.	22
<b>4. Hipótesis.</b>	23
<b>5. Parte experimental.</b>	24
5.1    Reactivos y disolventes.	26
5.2    Equipo.	26
5.3    Extracción del ácido carmínico a partir de la grana cochinilla.	27
5.4    Purificación del ácido carmínico.	28
5.5    Acetilación del ácido carmínico.	28
5.6    Pruebas de solubilidad en aceite vegetal.	29
<b>6. Resultados y Discusión.</b>	30
<b>7. Conclusiones.</b>	46
<b>8. Bibliografía.</b>	48
<b>9. Anexos.</b>	54

# **1. INTRODUCCIÓN**

El ácido carmínico (AC) es el principal metabolito del cuerpo de la hembra en el insecto grana cochinilla (*Dactylopius Coccus*). Este insecto es un parásito del nopal. El uso más común del AC desde la época prehispánica es como colorante. Su estructura es de un derivado antraquinóide que contiene grupos funcionales que le confieren propiedades especiales, las cuales lo hacen aparecer más que como un simple colorante.

En este trabajo se llevó a cabo una investigación que abarcó desde el año 1908 hasta el año 2004 en la fuente de información secundaria llamada Chemical Abstract. De esa revisión bibliográfica fueron seleccionadas las aplicaciones médicas que presenta el AC. Estas se clasificaron en base al uso que se le da para tratar diversas enfermedades. Lo anterior es con el objeto de dar a conocer la importancia de obtener puro el AC como principio activo para tratar diversos padecimientos.

Se llevó a cabo la extracción del AC utilizando diversos métodos de extracción, mismos a los que se les implementaron algunas herramientas de la química verde (QV), tales como, uso de materia prima renovable, fuentes alternativas de energía y el uso de disolventes que no sean tóxicos. Lo anterior es con el objeto de obtener un proceso de extracción verde que sea económico y de rendimientos favorables.

Se realizaron pruebas de recristalización del AC empleando distintos disolventes con el objeto de encontrar la mejor técnica para obtener el AC puro y así emplearlo como reactivo analítico, principio activo en diversos medicamentos y colorante polar.

Por otro lado, se llevó a cabo una reacción de acetilación del AC, utilizando algunas herramientas de la QV, tales como, uso de materia prima renovable, fuente alternativa de energía y cálculo de la economía atómica. La acetilación se realizó para emplear el AC como colorante liposoluble que pueda ser utilizado en la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos.



## **2. ANTECEDENTES**

## **2.1 HERRAMIENTAS Y APLICACIONES DE LA QUÍMICA VERDE.**

Con el crecimiento global desde la Segunda Guerra Mundial, la industria química actualmente produce billones de toneladas por año de más de 70,000 sustancias comerciales, las cuales son usadas para diversos propósitos técnicos y económicos.<sup>1</sup>

La contaminación química ha llegado a ser un problema de alcance mundial muy severo, como el calentamiento global, la destrucción de ozono, y la pérdida de la biodiversidad.<sup>1</sup>

A raíz de estos problemas, en los años noventas surge una nueva rama de la química, llamada Química Verde(QV), que diseña procesos y productos que reducen o eliminan la generación de sustancias peligrosas.<sup>2</sup>

La QV es un campo multidisciplinario cuyo tronco es la química, integrando las ciencias biológicas y físicas, así como muchos aspectos de la ingeniería. La QV se considera un nuevo paradigma en el camino de los químicos para desarrollar procesos y productos ambientalmente benignos, para ello actualmente dispone de una caja de herramientas, que responden a algunos problemas anteriores de la industria química.<sup>3</sup>

Las principales herramientas de la QV son<sup>3</sup>:

- 2.1.1 Los 12 Postulados.
- 2.1.2 Métodos para medir lo verde de un proceso químico.
- 2.1.3 Catalizadores.
- 2.1.4 Fuentes alternas de energía.
- 2.1.5 Disolventes.
- 2.1.6 Fuentes renovables de materia prima.
- 2.1.7 Biotecnología.
- 2.1.8 Química en micro escala.
- 2.1.9 Electroquímica.

A continuación se describe brevemente cada una de estas herramientas:

### **2.1.1 Los 12 Postulados.**

En 1998, Anastas y Warner publicaron los 12 postulados que rigen la QV. Los químicos de hoy y del futuro deben conocer estos principios, con el objeto de prevenir el deterioro ambiental originado por los procesos químicos. A continuación se numeran dichos principios.<sup>4</sup>

- I. Prevención.
- II. Alta economía atómica.
- III. Trabajar y generar sustancias con baja toxicidad.
- IV. Generar productos eficaces pero no tóxicos.
- V. Reducir el uso de sustancias auxiliares.
- VI. Disminuir el consumo de energía.
- VII. Utilizar materia prima renovable.
- VIII. Evitar derivados innecesarios.

- IX. Potencializar los catalizadores.
- X. Generar productos biodegradables.
- XI. Desarrollar metodologías analíticas para el monitoreo en tiempo real.
- XII. Minimizar los accidentes químicos.

## 2.1.2 Métodos para medir lo verde de un proceso químico.

### 2.1.2.1. Economía atómica.

A través de la economía atómica, se puede medir lo verde de un proceso químico.<sup>5</sup> Se puede obtener el cálculo de economía atómica para reacciones de sustitución, eliminación, adición y transposición.<sup>6</sup> La economía atómica ideal es 100% y calcula la fracción de los reactivos que se incorporaron en el producto.<sup>7</sup>

$$\text{Porcentaje de Economía Atómica} = \left( \frac{\Sigma \text{ Peso molecular de los productos.}}{\Sigma \text{ Peso molecular de reactivos.}} \right) \times 100$$

### 2.1.2.2. Factor ambiental.

El factor ambiental incluye la masa del disolvente utilizado y los subproductos formados durante la reacción y muestra énfasis sobre la cantidad de residuos producidos durante el curso de la reacción. El factor ambiental ideal es cero.<sup>7</sup>

$$\text{Factor Ambiental} = \frac{\Sigma \text{ Masa de residuos y subproductos}}{\text{Masa del Producto}}$$

## 2.1.3 Catalizadores.

Los catalizadores son un pilar fundamental de la QV.<sup>8</sup> Los catalizadores reducen la energía de activación de las reacciones.<sup>9</sup> El uso de estos catalizadores disminuyen considerablemente la cantidad de agentes tóxicos, tales como los metales pesados.

En el caso de las oxidaciones, los catalizadores son regenerados por oxidantes tales como peróxido de hidrógeno y oxígeno ya que estos son oxidantes verdes.<sup>10</sup>

Por otro lado, se tienen los biocatalizadores (enzimas).<sup>11</sup> Estos llevan a cabo procesos químicos difíciles de realizarse por procesos sintéticos artificiales.

Por ejemplo, la síntesis química de la vitamina B<sub>12</sub> no es práctica ya que requiere 70 etapas de reacción. En cambio, a partir de glucosa y por medio de microorganismos se cataliza la síntesis de la vitamina B<sub>12</sub>, obteniendo los rendimientos más altos a partir de *Propionibacterium fredenreichii* y *Propionibacterium shermanii*.<sup>12</sup> En la Figura 1, se muestra la estructura de la vitamina B12.<sup>12</sup>

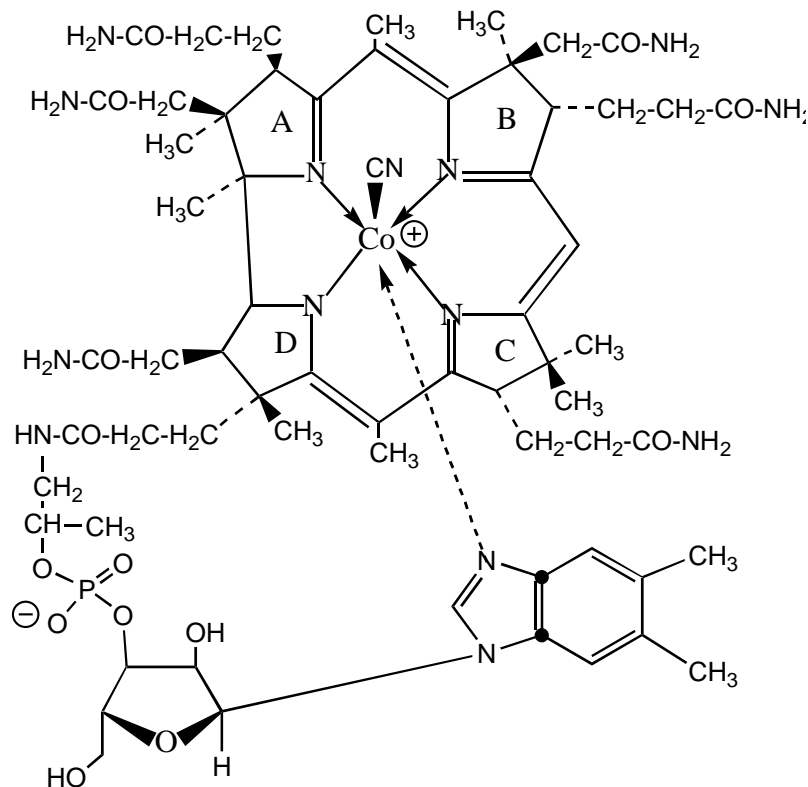


Figura 1. Estructura de la Vitamina B12.

#### 2.1.4 Fuentes alternas de energía.

Algunas Fuentes alternas de energía son las microondas,<sup>13-15</sup> el ultrasonido<sup>16</sup> y la fotoquímica, tales como el UV y el IR. Una de las fuentes alternas de energía más empleada actualmente es la radiación por microondas.

Debido a que en este trabajo se utilizó un horno de microondas, este tema se describe con más profundidad.

##### 2.1.4.1 Aplicaciones de las microondas en la química.

Durante el curso de un proyecto de investigación relacionado con el radar, alrededor de 1946, el doctor Percy Spencer, ingeniero de la Raytheon Corporation, notó algo muy peculiar. Estaba probando un nuevo tubo al vacío llamado [magnetron](#) cuando descubrió que un dulce que tenía en su bolsa se había derretido. A la mañana siguiente, el científico decidió colocar el magnetron cerca de un huevo de gallina y observó cómo el huevo comenzó a vibrar debido al aumento de presión interna originada por el rápido incremento de la temperatura de su contenido. El doctor Spencer diseñó una caja metálica con una abertura en la que introdujo energía de microondas. Esta energía, dentro de la caja, no podía escapar y por lo tanto creaba un campo electromagnético de mayor densidad. El doctor Spencer había inventado lo que iba a revolucionar la forma de cocinar y sentaba las bases de una industria multimillonaria: *el horno de microondas*.<sup>17</sup>

En 1947, salió al mercado el primer horno comercial de microondas, las industrias comenzaron a emplear las microondas para secar rebanadas de papa, tostar granos de café y cacahuates, se podían descongelar, pre-asar y dar cocimiento final a las carnes.<sup>17</sup>

En la década de 1970s se mejoró el magnetrón, disminuyendo los costos de los microondas. A mediados de la década de 1980s se inician sus aplicaciones en síntesis orgánica.<sup>18</sup> De esta manera, dos grupos de científicos encabezados por Gedye R. y Giguere R. por primera vez y en forma independiente publicaron en Tetrahedron Letters en 1986 el uso de esta radiación en las reacciones orgánicas.<sup>19,20</sup>

#### 2.1.4.2. Principios de irradiación con microondas.

Los mecanismos para disipar la energía de microondas son la rotación bipolar y la conducción iónica.<sup>18</sup> Como se muestra en las Figuras 2 y 3.

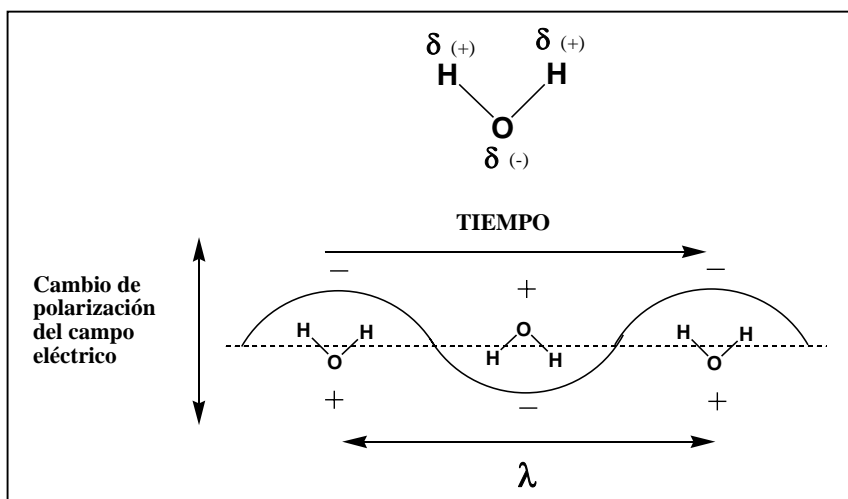


Figura 2. Rotación bipolar.

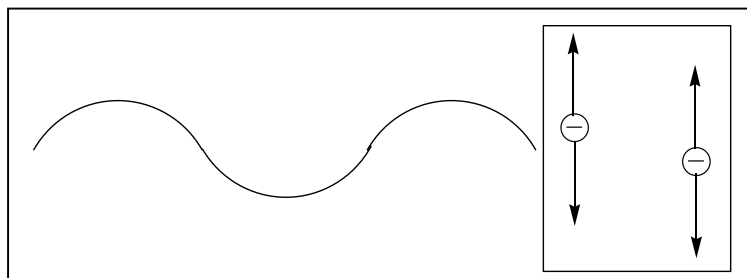


Figura 3. Conducción Iónica.

Los métodos de calentamiento en química tradicional con el mechero Bunsen (Robert Bunsen, 1855; Figura 4) y la parrilla eléctrica son del exterior al interior y el gasto de energía es mayor, en cambio mediante el microondas el calentamiento es inverso, ya que va desde el interior hacia el exterior.<sup>21</sup> Como se muestra en las Figuras 5 y 6.

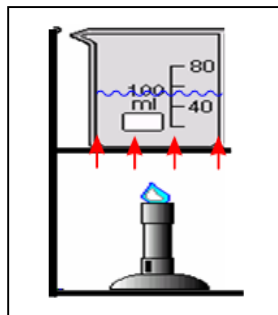


Figura 4. Calentamiento tradicional con mechero Bunsen.

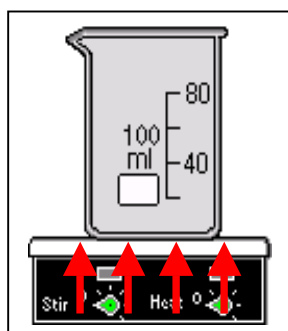


Figura 5. Calentamiento tradicional con parrilla eléctrica.

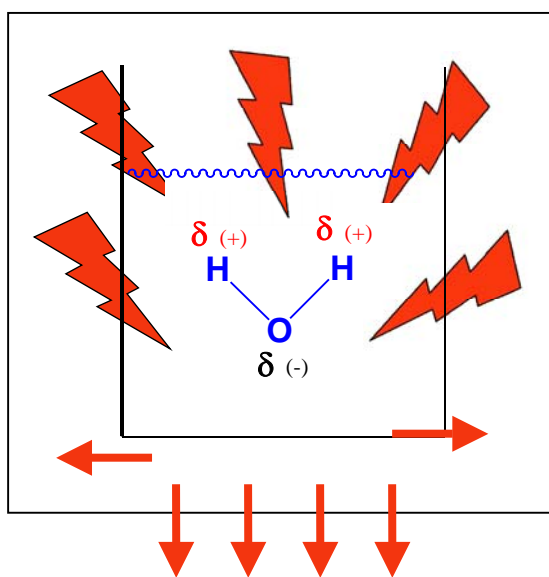


Figura 6. Calentamiento con microondas.

Los hornos de microondas empleados para las reacciones químicas pueden ser multimodales, Figura 7 o monomodal, Figura 8. Los modos son las zonas de mayor calentamiento.<sup>18</sup>

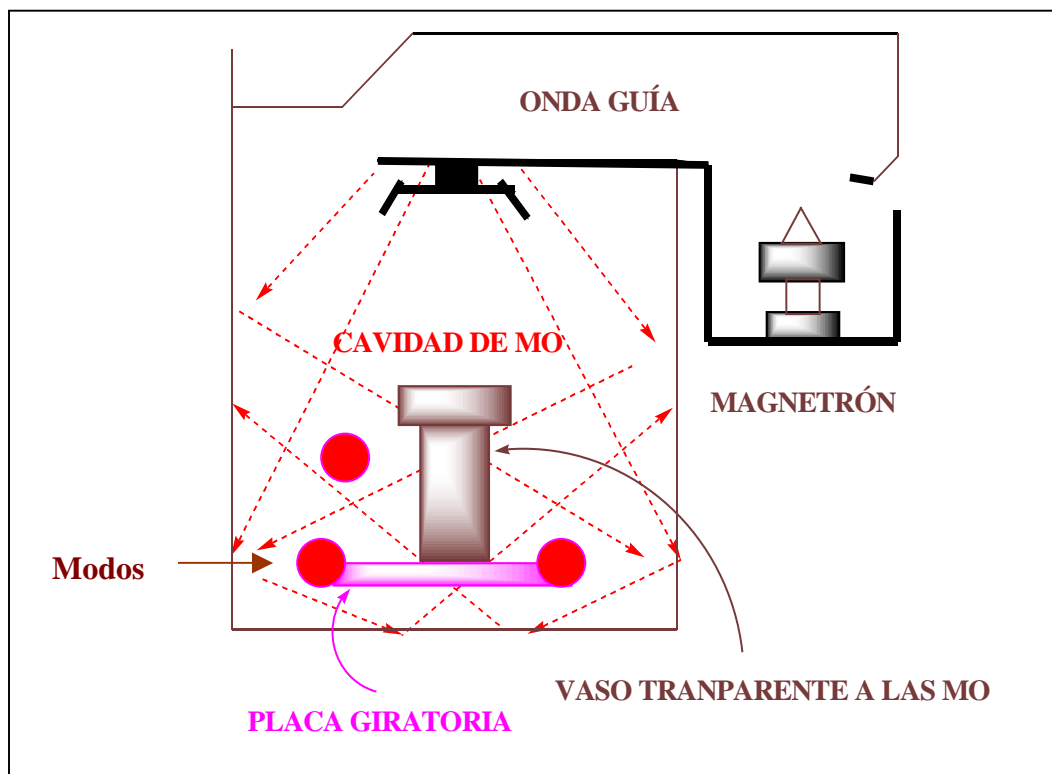


Figura 7. Horno doméstico multimodal.

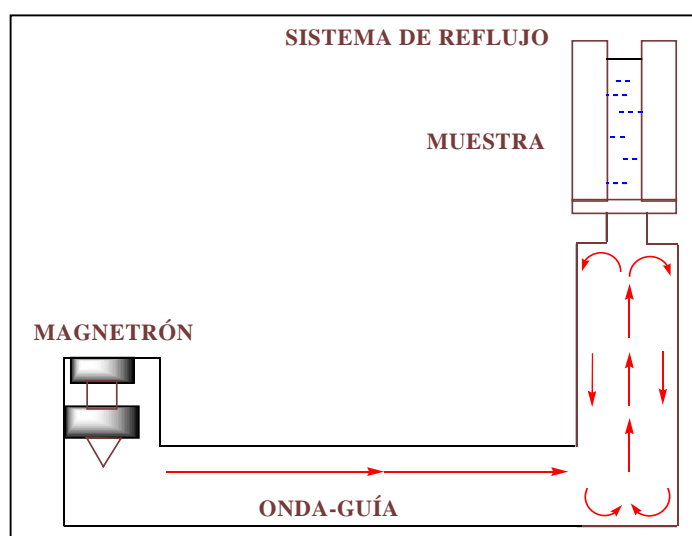
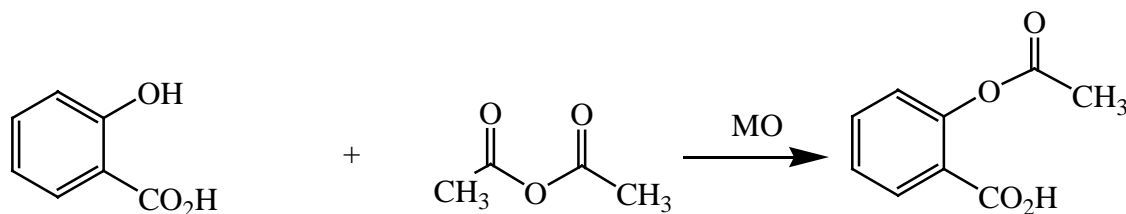


Figura 8. Reactor monomodal enfocado sobre un recipiente abierto.<sup>21</sup>

### 2.1.4.3 Modalidad de las reacciones en Horno de MO.

A) Sin disolventes (reactivos puros en recipientes abiertos). Por ejemplo la obtención de la aspirina:<sup>22</sup>



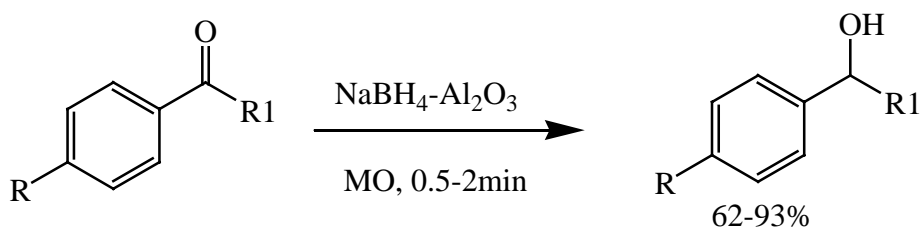
ÁCIDO SALICÍLICO

ANHIDRIDO ACÉTICO

ASPIRINA

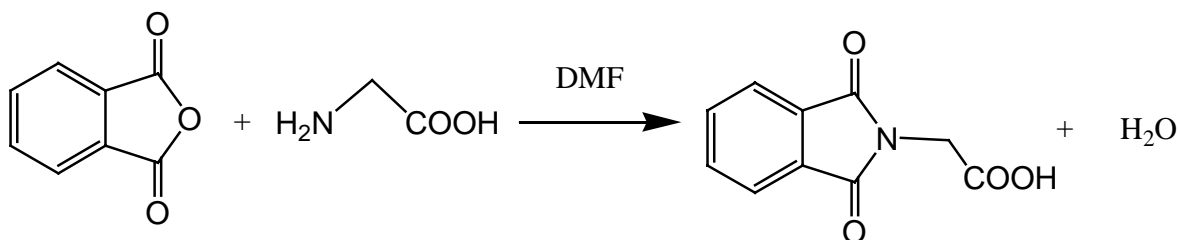
Las microondas extraen aceites esenciales como albahaca, menta y tomillo, sin emplear disolventes, incluso no se requiere agua, como generalmente se utiliza al hacer la extracción por arrastre de vapor.<sup>23</sup>

B) Sobre soportes porosos (reacción en medio seco). Por ejemplo la reducción de aldehídos y cetonas a los correspondientes alcoholes llevada a cabo por Raj Varma.<sup>24</sup>



C) Con disolventes. El manejo con disolventes en microondas debe ser con cuidado y se han implementado reactores que impiden que se proyecten las reacciones, e incluso hay reacciones en donde se utiliza un sistema de reflujo al aparato. Es necesario que los disolventes sean polares para que se lleven a cabo las reacciones en microondas.<sup>18,21.</sup>

Por ejemplo:



ANHIDRIDO  
FTALICO

GLICINA

FTALMIDA



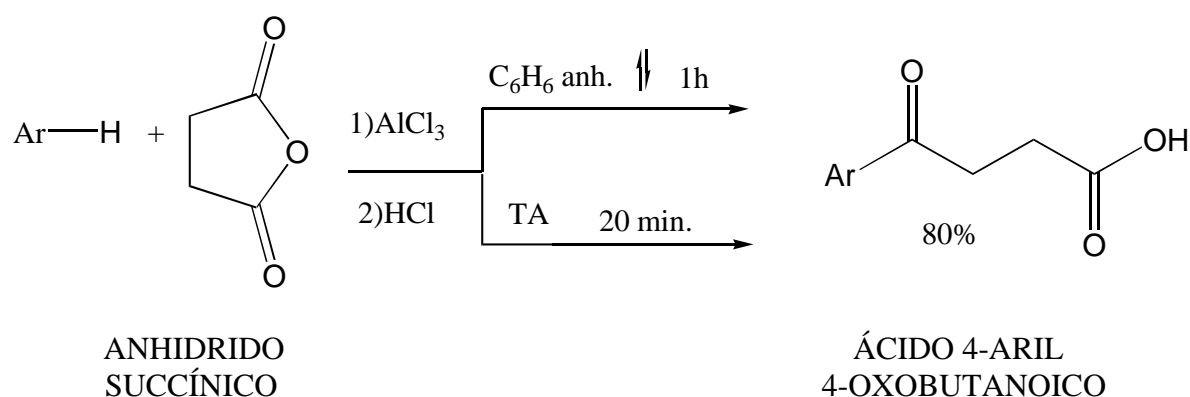
La reacción anterior se llevó a cabo en un microondas Synthewave 402® con reactor monomodal de la compañía Prolabo, durante 3 minutos a temperatura de 188 °C.<sup>25</sup>

En general se ha visto que las reacciones orgánicas con microondas se llevan a cabo con mayor rapidez y los rendimientos son más altos que los métodos tradicionales. Además algunas reacciones con microondas han demostrado ser selectivas.<sup>26</sup>

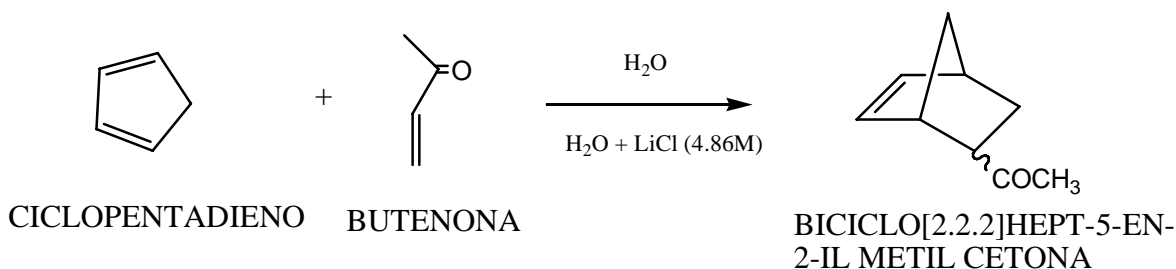
### 2.1.5 Disolventes

Los disolventes juegan un papel fundamental en la QV porque son los principales responsables de la contaminación, por eso es importante llevar a cabo procesos: sin disolvente,<sup>27</sup> en medio acuoso;<sup>28</sup> líquidos iónicos,<sup>29,30</sup> fluidos supercríticos<sup>31</sup> y disolventes fluorados bifásicos.<sup>32</sup>

Por ejemplo, se puede llevar a cabo una acilación de Friedel Crafts, a temperatura ambiente al colocar los reactivos en un mortero; moliéndolos durante 20 minutos.<sup>33</sup> Misma reacción que se realiza a reflujo con benceno anhidro durante 1 hora por el método tradicional.<sup>33</sup>



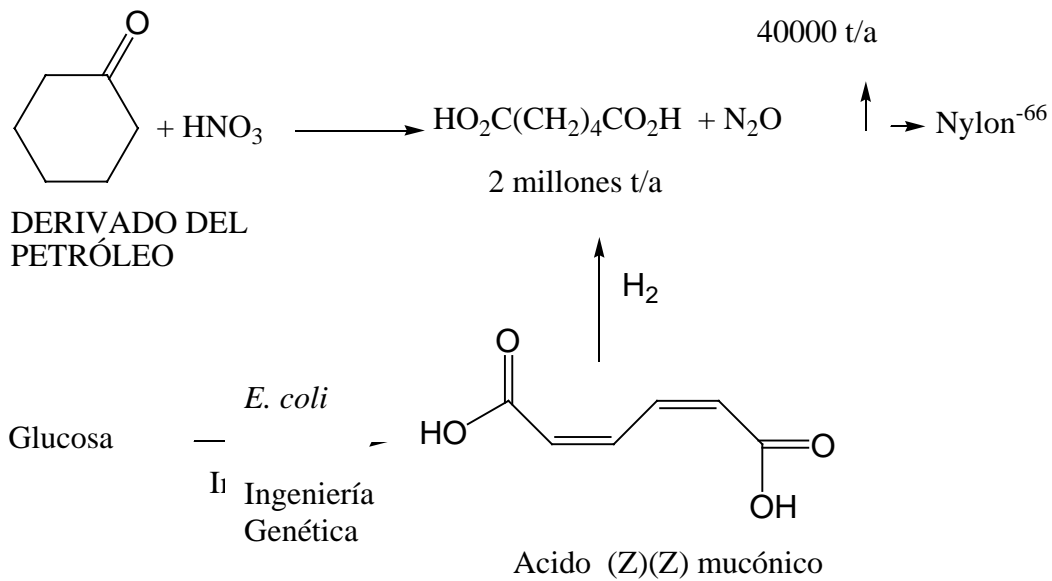
Existen diversos ejemplos con disolventes acuosos.<sup>34, 35</sup> Uno de ellos es la reacción de cicloadición de Diels – Alder:<sup>36</sup>



## 2.1.6 Fuentes renovables de materia prima.<sup>37-39</sup>

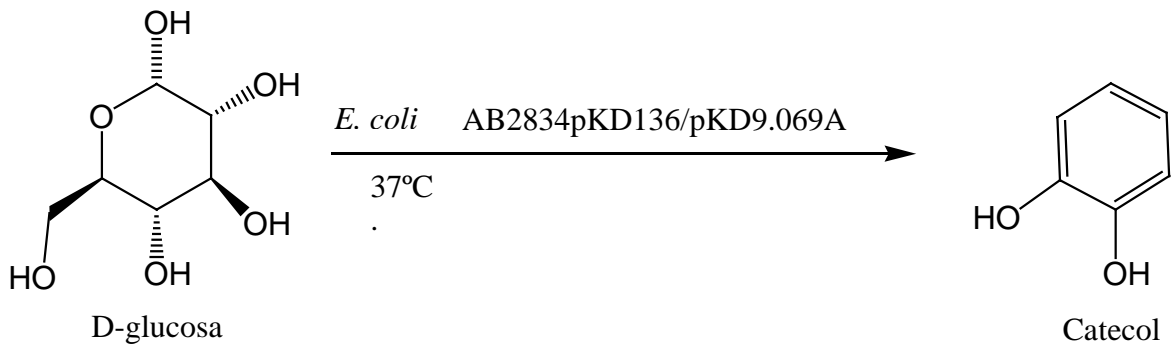
Más del 98% de todos los químicos orgánicos se obtienen del petróleo, recurso natural no renovable. Sin embargo en algunas décadas este recurso se terminará.<sup>40</sup> Por este motivo se están realizando investigaciones para obtener estos químicos de fuentes naturales renovables tales como: carbohidratos, grasas y aceites.

Un ejemplo muy claro es la obtención del Nylon-66. Tradicionalmente se obtenía a partir de un derivado del petróleo y ácido nítrico los cuales generaban como subproducto 40000 t/a de dióxido de nitrógeno, uno de los principales contaminantes de la atmósfera. Actualmente el Nylon-66 se puede obtener a partir de la glucosa por ingeniería genética evitando el uso del ácido nítrico.<sup>41</sup>



## 2.1.7 Biotecnología.

La biosíntesis de compuestos actualmente es muy empleada en la industria e investigación, por ejemplo en la obtención del Catecol a partir de la glucosa usando una cepa genéticamente modificada de *E. coli*.<sup>42</sup>



### **2.1.8 Química en micro-escala.**

La química en micro-escala se está utilizando principalmente en los centros educativos. Con esta técnica se puede trabajar con cantidades del orden de 200 mg de muestra, lo cual permite reducir costos, contaminación, accidentes por explosión e incendio.<sup>43,44</sup>

### **2.1.9 Electroquímica verde<sup>45-48</sup>.**

Se pueden llevar a cabo reacciones orgánicas en celdas electroquímicas. En los procesos electroquímicos siempre se realizan reacciones de oxidación así como de reducción mediante la incorporación de electrodos y una fuente de poder.

La electroquímica es verde en muchos tipos de procesos tales como: uso de mediadores, los cuales se regeneran electroquímicamente; reacciones de electrooxidación y cuando ambos procesos tanto de oxidación como de reducción generan productos de interés (reacciones apareadas).

De este modo la aplicación de la QV y la implementación de sus herramientas no solo favorecerán los ecosistemas, si no es una ciencia que aun tiene mucho que aportar en el futuro.

## **2.2 BREVE RESEÑA HISTÓRICA DEL ÁCIDO CARMÍNICO.**

El insecto de la grana cochinilla se conoce desde la época prehispánica por los Aztecas e Incas. Se utilizó para teñir túnicas y mantos de la realeza dándole un valor muy especial por su dificultad de cosecha y su relativa escasez.<sup>49</sup>

La grana cochinilla mejor conocida como grana o nocheztli, originaria del México Prehispánico, es un insecto muy pequeño llamado también por su vida sedentaria “progalliinsecto”.<sup>50</sup>

Los indígenas Zoques “Teñían el algodón y pintaban sus casas con grana silvestre”; esta frase fue escrita por Eduardo Noguera, un arqueólogo mexicano.<sup>51</sup>

Los indígenas cultivaban las colonias de insectos con gran habilidad y alimentaban las nopaleras con ceniza de madera y desperdicios como abono, quitando otro tipo de plantas para conservar la humedad y fertilidad, así como también reducir el riesgo de infecciones a las cuales era propensa la nopalera.<sup>52</sup>

La grana cochinilla, al igual que los metales preciosos, jugó un papel muy importante en el proceso de integración de la Nueva España al mercado mundial. Las principales regiones productoras de grana fina en el México colonial fueron las provincias de la mixteca, del valle de Oaxaca, Tlaxcala, Cholula y Puebla, las de grana silvestre fueron Chiapas, Yucatán y Autlan de la grana.<sup>53</sup>

Los españoles se encargaron de introducirla a Europa en el siglo XV y su consumo en la industria textil del viejo continente adquirió tal importancia que llegó a sustituir al kermes, el colorante más codiciado de esa época.<sup>54</sup>

En el siglo XVIII la mayor producción de la grana cochinilla de la Nueva España estaba concentrada en las zonas productoras del valle de Oaxaca. Las más importantes eran: Antequera, sus valles y los alrededores; en la Sierra de Miahuatlán los pueblos que pertenecían a la alcaldía mayor de Nejapa, como Santa María Ecatepec y Yautepec; en la región zapoteca, Santa María Lachixío, Sóla o Sololá, y las costas de Xicayan.<sup>55</sup>

Durante la época colonial, casi la totalidad de la producción de estos colorantes se exportaba a España para ser consumido en la industria textil europea y solo un pequeño porcentaje de esto se empleaba en los obrajes que existían en diversas regiones de la Nueva España y Centroamérica.<sup>56</sup>

A principios del siglo XIX al emprender el visitador Gálvez y los Virreyes Croix y Bucareli la planeación y reestructuración económica del país se hicieron repetidas encuestas sobre la industria de la grana, pidiendo a numerosos conocedores y productores y autoridades civiles y eclesiásticas instrucciones y dictámenes. Por medio de su estudio se esperaba introducir nuevas medidas tendientes a mejorar y estabilizar la producción, a evitar fraudes de intermediarios y abusos para los cultivadores indígenas por parte de las autoridades.<sup>57</sup>

En el siglo XX se presentan varias aplicaciones del AC, tales como: reactivo analítico a través de la formación de complejos cuantificándolos por espectrofotometría;<sup>58,59</sup> como colorante de alimentos,<sup>60-63</sup> cosméticos<sup>64,65</sup> y diversas aplicaciones médicas que se mencionarán con mayor detalle más adelante.

Finalmente se presenta la estructura del AC en la Figura 9, y algunas de sus propiedades en la Tabla 1.

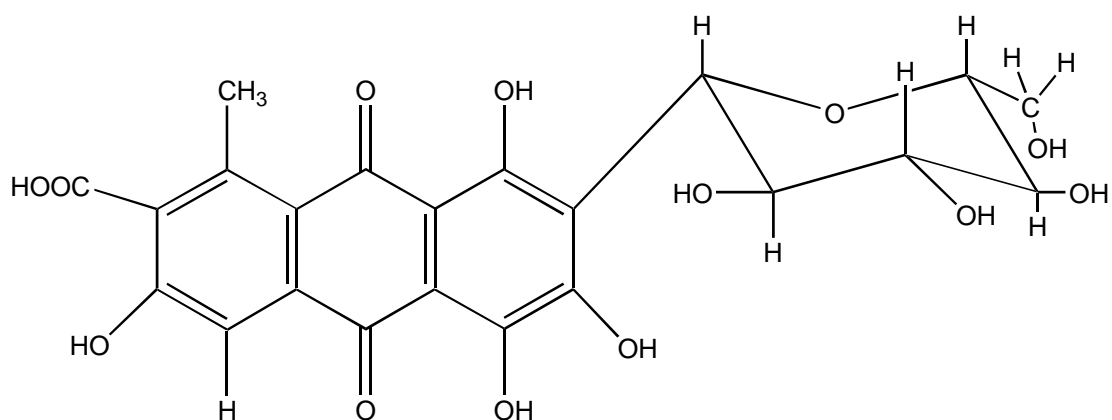


Figura 9. Ácido Carmínico.<sup>66</sup>

Tabla 1. Propiedades del ácido carmínico.<sup>67,68</sup>

Nombre IUPAC	Acido 7-D-glucopiranosil-9,10-dihidroxi-3,5,6,8-tetrahidroxi-1-metil-9,10-dioxo-2-antracencarboxílico
Fórmula empírica	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> O <sub>13</sub>
CAS Register	1260-179
Peso molecular	492.4 g/mol
Solubilidad	Agua, alcohol, ácido sulfúrico, ligeramente soluble en éter, acetona, tetrahidrofurano, prácticamente insoluble en éter de petróleo, benceno y cloroformo.
Longitud de onda máxima (nm).	490 a 540

### 2.3 APLICACIONES MÉDICAS DEL ÁCIDO CARMÍNICO.

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica en el Chemical Abstract desde 1908 hasta el 2004. A inicios de los 60's aparecen diversas aplicaciones médicas en las que se ha empleado el AC.

#### 2.3.1 CANCER

A mediados del siglo XX se pensaba que el AC inducía cáncer, pero al paso de los años se ha demostrado lo contrario. Además se ha comprobado que es anticancerígeno. A continuación se presentan cronológicamente diversos artículos sobre el tema.

En 1955 apareció un artículo sobre una posible inducción de actividad carcinogénica del AC.<sup>69</sup> En 1960 se realizaron estudios en alimentos que contienen el colorante de la grana cochinilla, utilizando microorganismos, en esos no se encontró actividad carcinogénica.<sup>70</sup>

Por otra parte, en 1962 y 1965 aparecen referencias relacionadas con estudios en los cuales se muestran datos de inhibición de células cancerosas por el AC.<sup>71,72</sup> Desde estas fechas hasta el 2003 los científicos han realizado múltiples pruebas que confirman su actividad anticancerígena.<sup>71-83</sup>

A inicios de los 70's aparecen citas de la actividad antineoplásica del AC sobre tumores de Jensen, en donde una administración antitumoral de una solución de cochinilla con ácido láctico inhibe el crecimiento de los tumores de Jensen en ratas. En otra publicación se menciona que un preparado de bismuto que contiene el AC presenta efecto antitumoral.

Se ha comprobado que un alto porcentaje de antraquinonas son mutagénicas para *Salmonella Typhimurium*. En 1976 y 1978 se prueba su actividad mutagénica en *Salmonella*<sup>84-87</sup>, siendo hasta 1979 cuando se evalúa nuevamente su actividad mutagénica utilizando *Salmonella Typhimurium* llegando a la conclusión de que el colorante antraquinóide natural obtenido del insecto *Dactylopius cactus* utilizado para

colorear alimentos no es mutagénico. Además, se realizaron pruebas para observar las reacciones entre AC como agente antitumoral con el DNA, observando que el AC no interactúa directamente con el DNA.<sup>88-90</sup> Pruebas similares se hicieron en 1980 para medir su efecto genotóxico y su efecto en la ruptura cromosómica, concluyendo que el AC no es genotóxico.<sup>91-93</sup> En el año 1981 se presentan investigaciones donde se trata de demostrar su efecto mutagénico tanto en cultivos de células humanas como en células de ratones, demostrando que solo a dosis muy altas presenta valores de mutagenicidad.<sup>94</sup>

En 1983 se investigó su efecto sinergista con agentes anticancerosos: hidroxilasa y guanilasa, también su participación dentro de preparados farmacéuticos para el tratamiento de diferentes formas de cáncer, demostrando su importancia en tratamientos de cáncer de piel, labio y nariz, principalmente.<sup>95</sup>

En 1987 y 1988 se mencionan estudios relacionados con su posible mutagenicidad y teratogenicidad, concluyendo que no tuvo efectos en ratas embarazadas tratadas con AC.<sup>96-99</sup>

En el año de 1990, investigadores Rumanos reportaron que una mezcla de 0.5% de ácido carmínico y 1.4% de ácido láctico tiene un efecto antitumoral en ratas que presentan sarcoma de Jensen. Un mL de la mezcla se administró en forma intratumoral después de dos semanas de que los tumores tenían el tamaño de una avellana. Un tratamiento simple inhibió el crecimiento del tumor resultando una ulceración de éste a través de la piel y su posterior eliminación.<sup>100</sup>

En los 90's también se demostró que el complejo de AC con Cu<sup>+2</sup> inhibe el crecimiento de células de Sarcoma 180 y de Leucemia L1210, *in vivo* e *in vitro*. La relación del complejo AC / Cu<sup>+2</sup> fue de 1:6. Además se sabe que los complejos de drogas con cobre (II) están asociados con el DNA para formar complejos ternarios Cu(II)-Antraquinona-DNA. Todo parece indicar que la función del cobre es unir las drogas de antraquinona con el DNA y posterior degradación de éste.<sup>101</sup>

En 1994 se llegó a la conclusión de que el AC no es carcinogénico en ratones.<sup>102</sup>

A finales del siglo XX se describe que la combinación de ácido carmínico con la protein/Tirosin cinasa se utiliza para la quimioprevención de cáncer y se observa que esta combinación, así como las antes mencionadas mejoran la actividad antineoplásica del compuesto.<sup>103</sup>

Investigadores españoles encontraron que el AC es un nuevo compuesto citostático, es decir que inhibe la multiplicación celular. Estos resultados son interesantes por dos razones: primero, nuevos fármacos con actividad anticáncer de baja toxicidad pueden mostrar una posible terapia y segundo, la versatilidad de la topología para evaluar mecanismos farmacológicos de acción en base a la estructura molecular.<sup>104</sup>

Como se mostró anteriormente se pensaba que el AC era tóxico y carcinogénico,<sup>105-110</sup> pero estudios más recientes muestran que no lo es y además es un compuesto anticancerígeno de muy baja toxicidad.<sup>111-117</sup>

Sin embargo, en los años de 1988, 1999, 2001 y 2003 se observó que el AC produce asma ocupacional en un reducido número de personas que trabajaban con este compuesto.<sup>118-121</sup>

### 2.3.2 DESINTOXICACIONES

Por otro lado, se han realizado estudios sobre la capacidad del AC para complejar metales pesados. A finales de los 60's se administró el AC en ratones hembra y macho a los cuales previamente se les había tratado con trióxido de arsénico, observando una disminución en la intoxicación.<sup>122</sup> En 1968 fue estudiada la desintoxicación por quinina con el AC en ratas y conejos.<sup>123</sup> EL AC incrementa la solubilidad del plomo, propiedad que se ha utilizado en pruebas de desintoxicación con resultados favorables.<sup>124</sup>

### 2.3.3 APLICACIONES MÉDICAS CON MENOR IMPACTO.

Otras aplicaciones médicas del AC es para disolver cálculos renales,<sup>125,126</sup> su actividad en el tracto gastrointestinal para el tratamiento de úlceras.<sup>127-129</sup>

Su efecto en el sistema cardiovascular, relacionado con coagulación sanguínea,<sup>130,131</sup> su relación con el sistema inmunológico.<sup>132-134</sup>

Otros estudios relevantes muestran la posibilidad de emplear el AC en el tratamiento de infecciones virales, como el VIH.<sup>77,135</sup>

Incluso tiene aplicaciones en la odontología para marcar las suciedades presentes en los dientes y así mejorar el cepillado y la limpieza de los mismos.<sup>136,137</sup>

En el 2001 se describió la aplicación de compuestos polihidroxilados en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, entre estos estaba el AC.<sup>138</sup>

Se ha reportado que el AC presenta actividad antimicrobiana.<sup>139-148</sup>

La administración de carmín en ratas mostró que la última generación de estas resultó ser mas sana que las anteriores.<sup>149</sup>

Como se puede ver, el AC se ha aplicado en diversas disciplinas médicas.<sup>150-169</sup>

## 2.4 COLORANTES.

La aplicación de los colorantes data desde cuevas prehistóricas pintadas con minerales hace más de 30, 000 años. En el tercer milenio antes de Cristo en China y Egipto se emplearon diversos colorantes con múltiples aplicaciones. Con el azul prusiano en 1704 fue sintetizado el primer colorante inorgánico. Importantes descubrimientos del siglo XX incluyen el rojo molibdato en 1936, seguido por el amarillo de titán en 1960.<sup>170</sup>

Desde el descubrimiento de los primeros colorantes sintéticos, hasta mediados del siglo XIX, los químicos han estado interesados en la relación entre el color de un colorante y su estructura molecular. En los inicios de la química sintética del color, poco se conocía sobre las estructuras de las moléculas orgánicas. Sin embargo, después de la propuesta de Kekulé respecto a la estructura del benceno en 1865, la química orgánica hizo un progreso importante y rápido como ciencia y, casi inmediatamente, comenzaron a aparecer en la literatura teorías relacionadas con la influencia de las estructuras orgánicas en el color de las moléculas. Una de las observaciones pertinentes más tempranas se debe a Graebe y Liebermann quienes, en 1867, observaron que el tratamiento con agentes reductores de los tintes conocidos hasta ese momento provocaba una rápida destrucción de su color. Concluyeron, no sin razón, que los colorantes eran compuestos insaturados y que esta instauración era destruida por la reducción.<sup>171</sup>

Quizá la contribución más temprana y destacada a la ciencia del color y la constitución se deba a Witt quien, en 1876, propuso que los tintes contienen dos tipos de grupos que son responsables de su color. El primero de éstos, denominado cromóforo, es definido como un grupo de átomos principalmente responsable del color del colorante. En segundo lugar están los auxócromos, de los que propuso que eran grupos de átomos “formadores de sales” cuya función, consistiría en proporcionar un imprescindible realce del color. En la actualidad, esta terminología todavía se emplea hasta cierto punto, para proporcionar una explicación simple del color.<sup>171</sup>

Otra contribución notable se debe a Hewitt y Michell, los primeros en proponer en 1907 que la conjugación es esencial para el color de una molécula de colorante. En 1928, este concepto fue asumido por Dilthey y Witzinger en su ampliación de la teoría de Witt de los cromóforos y los auxócromos. Se dieron cuenta de que el cromóforo es, comúnmente, un grupo que retira densidad electrónica y de que están unidos entre sí a través de un sistema conjugado. En esencia, había nacido el concepto de cromógeno donador – aceptor.<sup>171</sup>

Los cromóforos más importantes, definidos de este modo, son los grupos azo ( $-N=N-$ ), carbonilo ( $-C=O$ ), metino ( $-CH=$ ) y nitro ( $-NO_2$ ). Los auxócromos habitualmente encontrados, son grupos que normalmente aumentan la intensidad de color y desplazan la absorción a longitudes de onda mayores de la luz, por ejemplo los grupos hidroxilo ( $-OH$ ) y amino ( $-NR_2$ ).<sup>171</sup>

Un colorante es toda aquella sustancia de origen natural o artificial capaz de proporcionar color al medio en el que es aplicado siempre y cuando en base a su constitución química sea soluble en ese medio. De otro modo solo sería una dispersión del color o un pigmento el cual es insoluble en el medio donde es aplicado como la tinta de impresión en los papeles.<sup>170,171</sup>

Por un largo tiempo, el juicio visual ha sido un método básico en la evaluación de los colorantes, aunque recientes teorías sobre las características ópticas han innovado en la evaluación de los colorantes.<sup>170</sup>

Generalmente los colorantes son insolubles en solventes orgánicos y grasas, depende mucho del medio y las condiciones en las que se aplique el colorante. Los factores que controlan la solubilidad de un colorante incluyen el solvente, la estructura química, el



tamaño de partícula y la temperatura. Teniendo en cuenta que esta muy relacionada la solubilidad con la temperatura.<sup>170</sup>

Los colorantes orgánicos se clasifican principalmente en base a su estructura en: colorantes azo y colorantes policíclicos dentro de los cuales se encuentran los colorantes heterocíclicos de antraquinona<sup>170</sup>, molécula presente en el ácido carmínico.

### **3. OBJETIVOS**

### **3.1 GENERALES**

- 1) Realizar una revisión bibliográfica en Chemical Abstract desde el año 1908 hasta el 2004, sobre aplicaciones médicas del ácido carmínico extraído de la grana cochinilla.
- 2) Obtener el ácido carmínico a partir de la grana cochinilla.
- 3) Purificar el ácido carmínico.
- 4) Formar un derivado del ácido carmínico liposoluble.

### **3.2 PARTICULARES**

- 1) Clasificar cada 10 años la bibliografía obtenida sobre aplicaciones médicas del ácido carmínico desde 1908 al 2004, con el objeto de conocer específicamente el área de aplicación médica.
- 2) Extraer el ácido carmínico a partir de la grana cochinilla bajo diferentes condiciones mediante la aplicación de la química verde.
- 3) Purificar el ácido carmínico precipitándolo en forma de laca, liberación de este con ácido y posteriormente la obtención de cristales por distintas técnicas de cristalización.
- 4) Acetilar el ácido carmínico con anhídrido acético y distintos ácidos de Lewis como catalizadores.
- 5) Realizar pruebas de solubilidad del derivado acetilado en aceite vegetal.

## **4. HIPÓTESIS**

Una de las formas de disipar la energía de microondas es por medio de la rotación bipolar de moléculas polares, además de que el calentamiento va desde el interior del extracto hacia el exterior. Si la grana cochinilla molida se deja remojando en agua y posteriormente se le aplican las microondas, la energía se disipara hasta el agua absorbida en el interior del tejido haciendo que este se rompa por el calentamiento y se favorezca la extracción del colorante.

El AC es un compuesto hidrosoluble porque tiene grupos oxhidrilos tales como, fenol, alcohol y ácido carboxílico. Si se protegen los grupos oxhidrilo en la forma de un éster el derivado tendería a ser menos polar, con la posibilidad de ser liposoluble. El derivado peracetilado podría ser utilizado como colorante liposoluble en la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos.

## **5. PARTE EXPERIMENTAL**

## 5.1 REACTIVOS Y DISOLVENTES

Los reactivos y disolventes son de origen comercial y se utilizaron sin previa purificación: grana cochinilla, PROMOTORA TÉCNICA INDUSTRIAL S.A. DE C.V.; hexano (químicamente puro) al 98%. REPROQUIFIN; alcohol etílico absoluto (reactivo analítico) al 99.5%. REPROQUIFIN; ácido sulfúrico (solución reactivo) al 97.8%. J.T. BAKER; cloruro de calcio dihidratado, granular (reactivo) al 74.8%. J.T. BAKER; acetona (químicamente puro) al 99%. REPROQUIFIN; acetato de etilo (químicamente puro) al 99%. REPROQUIFIN; ácido acético (solución reactivo) al 97%. MERCK; metanol (químicamente puro) al 99.5%. REPROQUIFIN; benceno (reactivo analítico) al 99.8%. J.T. BAKER; cloruro de metileno (químicamente puro) al 99%. REPROQUIFIN; anhídrido acético (solución reactivo) al 97%. J.T. BAKER; Yodo (reactivo) al 99.8%. J.T. BAKER; el agua destilada se obtuvo de la planta piloto que se encuentra en el taller de ingeniería de la facultad de química. Grasa Vegetal (Especial láctea) HEGART DE MÉXICO.

## 5.2 EQUIPO

Balanza analítica SARTORIUS; parrilla de agitación y calentamiento CIMAREC<sup>®</sup>2; rotavapor BÜCHI.

Las reacciones activadas con microondas se llevaron a cabo en un aparato de microondas casero marca GENERAL ELECTRIC, 1.0 KW.

Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato de Fisher-Jones y se encuentran sin corregir.

Los espectros de IR fueron generados en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo FT IR 1605, empleándose pastillas de bromuro de potasio.

Los espectros de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C se obtuvieron en un espectrofotómetro Unity Inova Varian, empleando tetrametilsilano como estándar interno. Los desplazamientos químicos están dados en partes por millón.

El progreso de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina (cromatoplasas Merck de sílica gel 60 F<sub>254</sub>, 0.25mm de espesor). Como reveladores se utilizaron luz ultravioleta y vapores de yodo.

### 5.3 EXTRACCIÓN DEL ÁCIDO CARMÍNICO A PARTIR DE LA GRANA COCHINILLA.<sup>171</sup>

La grana cochinilla proporcionada se utilizó sin previo secado, Figura 10. Esta se sometió a un proceso de molienda, Figura 11. Se puso a ebullición grana cochinilla molida (10g) con hexano (100mL) durante 15 min. Posteriormente se filtró a vacío. Se desengrasó dos veces más la grana cochinilla con este procedimiento. Se pesó la cochinilla desengrasada y se calculó el porcentaje de grasa extraída. Se extrajo el ácido carmínico de la cochinilla desengrasada a diferentes condiciones (Ver tabla 2. en resultados) con 150 mL de agua destilada. Se dejó decantar por 24 horas. Se separó el extracto acuoso (1ra. Extracción). El residuo se extrajo dos veces más con las condiciones anteriores (2da. y 3ra. Extracción). A cada uno de los extractos se les adicionó cloruro de calcio (0.882g) y se sometieron a calentamiento con agitación magnética durante 3 minutos. La laca de calcio se dejó enfriar y se filtró con tela (peyón). Se lavó con acetona y se secó con luz infrarroja.

Se determinó el rendimiento de carminato de calcio para cada una de las tres extracciones. Se juntó el carminato de calcio de las tres extracciones adicionando etanol (150mL). A la mezcla anterior se adicionó ácido sulfúrico (0.25mL) y se calentó a ebullición durante 20 minutos para liberar el ácido carmínico. El extracto etanólico se dejó enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se filtró a vacío el sulfato de calcio. El extracto etanólico se concentró en un rotavapor hasta un volumen de 15mL. Por enfriamiento lento se obtuvo el AC, el cual se filtró a vacío lavando con acetona, después con acetato de etilo y finalmente con hexano. Se pesó y se sacó rendimiento.



Figura 10. Grana cochinilla.



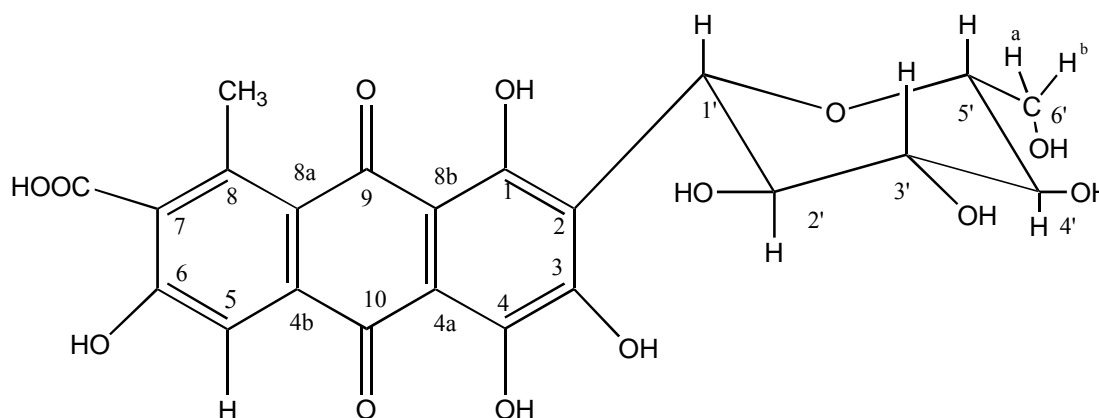
Figura 11. Grana cochinilla en proceso de molienda.



## 5.4 PURIFICACIÓN DEL AC.<sup>66,182</sup>

Para obtener cristales más puros se llevaron a cabo distintas pruebas de cristalización con distintos disolventes, tales como: ácido acético/agua (5:1), Metanol (cristaliza con Metanol), Etanol, Etanol/Benceno, Etanol/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

La cristalización de metanol da AC en la forma de prismas rojos oscuros con descomposición en 210 °C. IR;  $V_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3456 (O-H), 2918 (C<sub>sp3</sub>-H alifático), 1721 (C=O). RMN-H<sup>1</sup>,  $\delta$  ppm; DMSO<sub>d6</sub>: 2.49 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.12-3.26 (3H, m, 3'-H, 4'-H, 5'-H), 3.39-3.45 (1H, m, 6a'-H), 3.69 (1H, d, 6b'-H, J= 10.83), 4.03 (1H, m, 2'-H), 4.72 (1H, d, 1'-H, J= 9.81), 7.70 (1H, s, 5-H), 13.13, 10.60, 4.90, 4.5, 3.4 (OH antraquinona). RMN-C<sup>13</sup>,  $\delta$  ppm; DMSO<sub>d6</sub>: 19.71 (CH<sub>3</sub>), 61.26 (C6'), 70.30 (C5'), 70.37 (C2'), 73.19 (C1'), 78.61 (C3'), 81.64 (C4'), 104.99 (C8b), 111.24 (C4a), 111.39 (C5), 121.3 (C2), 123.12 (C8a), 132.0 (C7), 135.59 (C4b), 139.95 (C8), 147.58 (C4), 153.93 (C3), 157.7 (C1), 159.78 (C6), 167.88 (CO<sub>2</sub>H), 185.99 (C9), 186.12 (C10).



En la región UV el AC presenta,  $\lambda_{\max}= 277.53$  ( $\epsilon= 56320$ ) y  $\lambda_{\max}= 497.99$  ( $\epsilon= 17752$ ).

## 5.5 ACETILACIÓN DEL ÁCIDO CARMÍNICO<sup>66</sup>

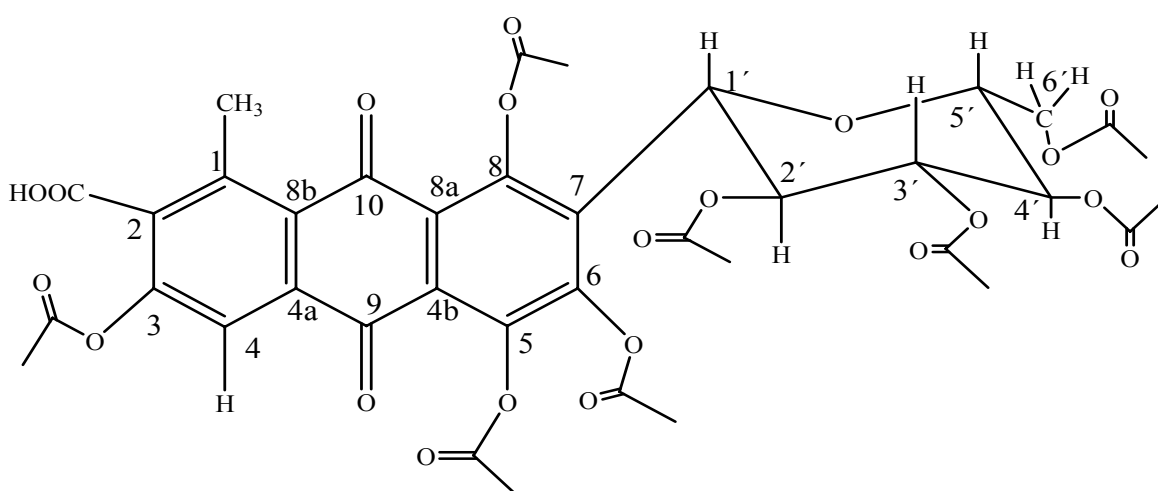
Se pesó ácido carmínico (0.2g) y se adicionó anhídrido acético (2mL), se calentó la mezcla durante 10 minutos en microondas, en intervalos de 1min, para evitar que se proyecte. La reacción se siguió en cromatografía en capa fina. (Compuesto A1).

Se repitió el mismo proceso anterior agregando distintos ácidos de Lewis como catalizadores: una gota de ácido sulfúrico (Compuesto A2) y 0.014g de yodo (Compuesto A3). El tiempo de calentamiento en microondas fue de 2 minutos.

Se adicionó gota a gota agua destilada para eliminar el exceso de anhídrido acético hasta un volumen de 5 mL. Posteriormente el producto crudo se extrajo con cloruro de metileno (15 mL). Se separó la fase acuosa y la fase orgánica se lavó con salmuera. Solamente en la reacción que utilizó yodo como catalizador se lavó con tiosulfato de

sodio al 5% y posteriormente con salmuera. La fase orgánica se seco con cloruro de calcio anhidro. Finalmente, se evaporó el disolvente en el rotavapor y se obtuvo un sólido de color amarillo, del cual se sacó el % de rendimiento, y % de economía atómica. Obteniendo de A1 el 47.95%, de A2 el 59.88% y de A3 el 95.05%

El octaacetato del AC es un compuesto de color amarillo con un punto de fusión 168-171°C. (Punto de fusión reportado 171°C)<sup>66</sup> IR;  $V_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 1783, 1754, 1679 (C=O), RMN- $^1\text{H}$  DMSO $_{d_6}$   $\delta$ : 1.74(3H, S, 2'-OAc) 1.91-2.01(12H, m, 3'-, 4'-, 6'-OAc) 2.29(3H, S, 1-CH $_3$ ) 2.3-2-6(12H, 3-, 5-, 6-, 8-OAc) 3.9(1H, d, 5'-H) 4.2-4.3(2H, m, 6'-H $^a$ , 6'-H $^b$ ) 5.0-5.6(4H, m, 1'-H, 2'-H, 3'-H, 4'-H).RMN- $^{13}\text{C}$  DMSO $_{d_6}$   $\delta$ : 17.9-21.0(1-Me, 2'-C-, 3'-C-, 4'-C-, 6'-C-, 3-C-, 5-C-, 6-C-, 8-C-OAc) 61.7(6'-C) 67.9(2-C, 5'-C) 69.5(1'-C) 73.4(3'-C) 74.7(4'-C) 165-170(1-C, 3-C, 5-C, 6-C, 8-C) 119-140(2-C, 4-C, 7-C, 8 $^a$ -C, 8 $^b$ -C, 4 $^a$ -C, 4 $^b$ -C) 187(9-C) 186.5(10-C) 171(COOH).



En la región UV el compuesto A3 presenta,  $\lambda_{\max} = 214.11$  ( $\epsilon = 16974$ ) y  $\lambda_{\max} = 264.15$  ( $\epsilon = 53413$ ).

## 5.6 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD EN ACEITE VEGETAL.

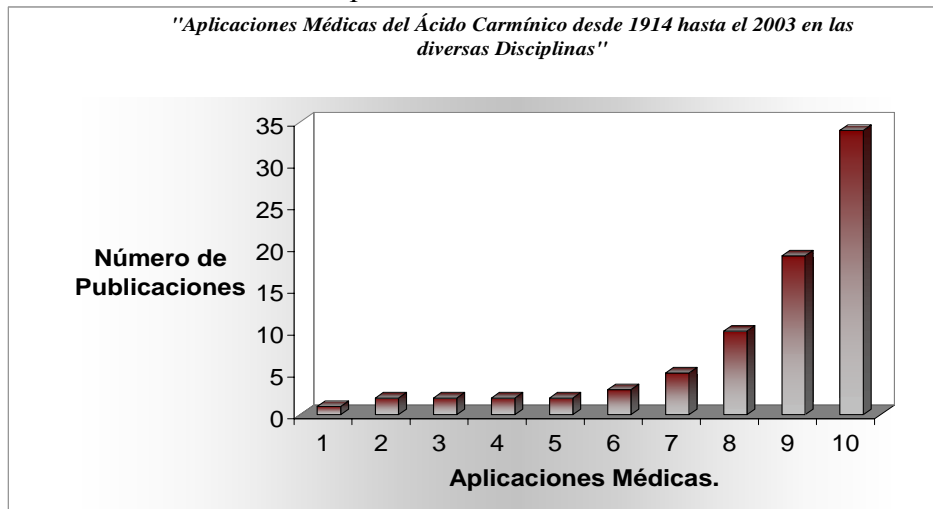
Posteriormente se llevó a cabo la prueba de solubilidad del derivado acetilado. Se calentó la grasa vegetal (3g) hasta estado líquido, se adicionó a una parte de la grasa líquida por separado el derivado acetilado (15mg). Una vez lograda la disolución del colorante, la grasa se incorpora al total hasta tener un color homogéneo, se dejó solidificar.

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

## 6.1 Aplicaciones médicas del AC

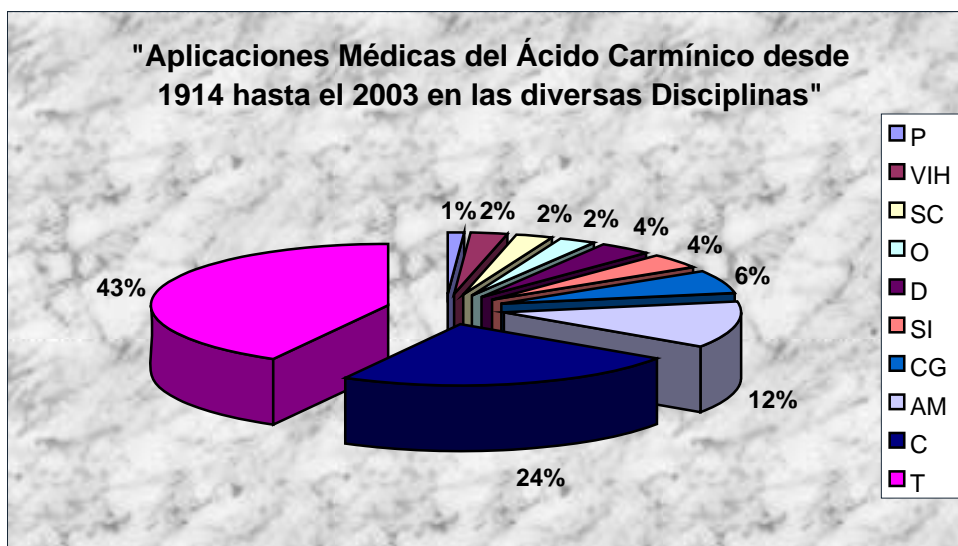
Se llevó a cabo una revisión monográfica total sobre el AC y la grana cochinilla desde 1914 hasta 2004 en Chemical Abstract. De toda esta información se seleccionaron las que tratan sobre las aplicaciones médicas más importantes. Las referencias fueron clasificadas de acuerdo al tipo de aplicación médica del AC, como se muestra en la Gráfica 1 y 2.

Grafica 1. Aplicaciones Médicas.<sup>67-102,104-168.</sup>



1= Parkinson y Alzheimer.(P), 2= Virus de Inmunodeficiencia Humana.(VIH), 3= Sistema Cardiovascular. (SC), 4= Odontología. (O), 5= Desintoxicaciones. (D) , 6= Sistema inmunológico. (SI), 7= Cálculos Renales y Funciones Gastrointestinales.(CG), 8= Antimicrobiano. (AM), 9= Cáncer. (C), 10= Toxicidad. (T).

Grafica 2. Porcentaje de publicaciones relacionadas con aplicaciones médicas.<sup>67-102,104-168</sup>



Como se puede observar, predominan estudios sobre la toxicidad (T) del AC. La mayoría de ellas indica que no es tóxico para el ser humano. Del análisis de información se puede concluir que el AC no es cancerígeno. Sin embargo, hay algunas referencias que indican que el AC puede llegar a producir asma en un reducido número de personas.<sup>118-121</sup>

El uso médico que le sigue de importancia por el número de publicaciones es sobre su relación con el cáncer (C). Además su actividad anticancerígena puede aumentar con la incorporación de otras sustancias.

Obviamente la actividad anticancerígena del AC está relacionada con su estructura antraquinóide, semejante a la Doxorubicin antraciclina y a la Daunomicina, fármacos con actividad anticáncer.

See-Cheng y Cheng dieron a conocer en 1970 que la estructura triangular N-O-O<sup>173</sup> Figura 12. Es común de entre un gran número de agentes antileucémicos. En base a ésta observación, Adamson<sup>174</sup> sugirió la eliminación del amino azúcar a partir de las sustancias anticancerígenas, adriamicina y daunomicina Figura 13.

Ambas contienen la estructura triangular característica, pero retienen el grupo funcional amino a una distancia apropiada a partir de los átomos de oxígeno. Así, el rasgo farmacofórico triangular original puede mantenerse intacto pero la cardiotoxicidad de éstas antraciclina, que se cree es causado por el amino azúcar, puede ser disminuido. Un examen de éstos antibióticos de antraciclina indicaron que el rasgo estructural N-O-O puede aún retenerse con la eliminación adicional de la porción de anillo tetrahidro de seis miembros a partir del sistema de anillos aglicon antraciclina. Lo que queda en la estructura resultante es una cadena lateral conteniendo un grupo amino unida sobre un anillo de antraquinona (9,10-antracendiona). Este concepto original dio como resultado la estructura de Ametantrona, Figura 14, un colorante usado como tinta en lapiceros de punta esférica, el cual mostró actividad antineoplásica por la incorporación de dos grupos oxhídrido (para introducir dos conjuntos de farmacóforos triangulares N-O-O).<sup>175</sup>

Cabe mencionar que el AC también posee los dos grupos oxhídrido en la misma posición que la Mitoxantrona. La Mitoxantrona, Figura 15,<sup>176-179</sup> posee significativa actividad contra el cáncer.

Muchos análogos de ésta sustancia han sido sintetizados y estudiados, los cuales han presentado varios grados de actividad biológica.<sup>176</sup> La importancia del grupo funcional amino en la Mitoxantrona ha sido afirmado por el hecho de que el remplazamiento del átomo de nitrógeno estratégico sobre la cadena lateral por azufre, oxígeno o átomos de carbono resulta en una total nulificación de la actividad antineoplásica.<sup>175</sup> El clorhidrato de la Mitoxantrona preparada subsecuentemente posee actividad similar a la Mitoxantrona, como era de esperarse.<sup>175</sup>

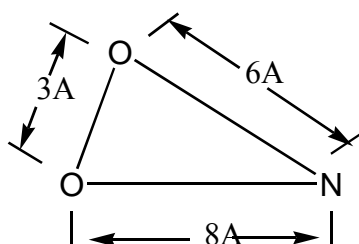


Figura 12. Estructura de See Cheng y Cheng (Farmacoforo).

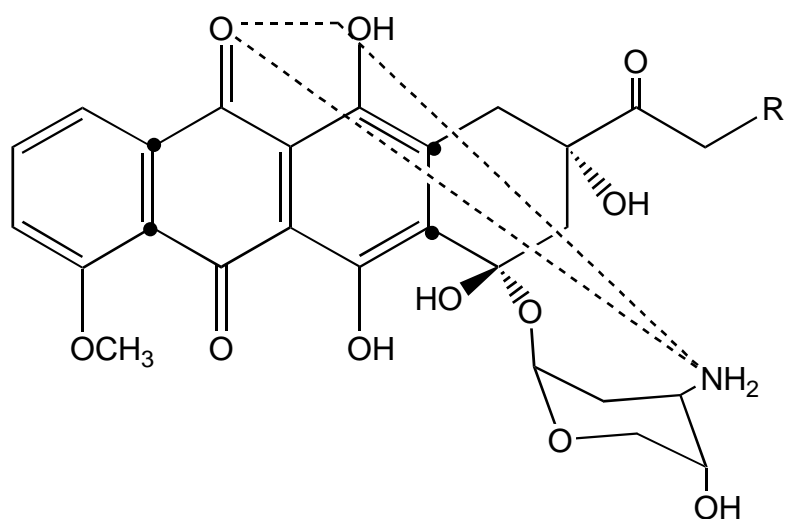


Figura 13. Anticancerígenos de Adriamicina ( $\text{R}=\text{OH}$ ) y Daunomicina ( $\text{R}=\text{H}$ )

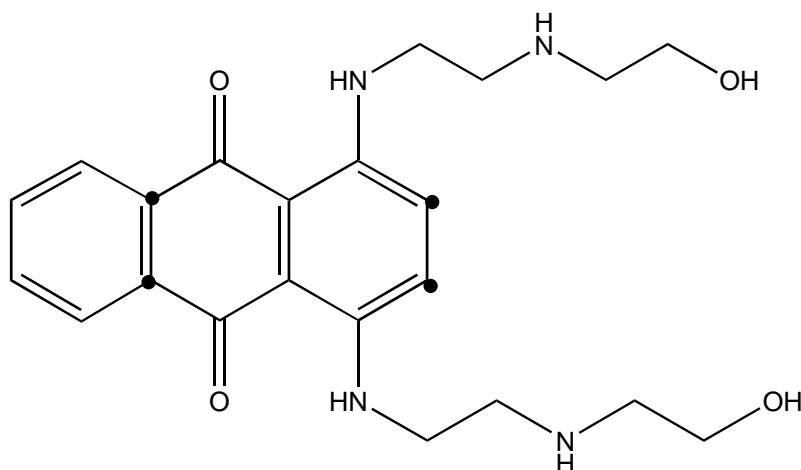


Figura 14. Ametantrona compuesto con actividad Antineoplásica.

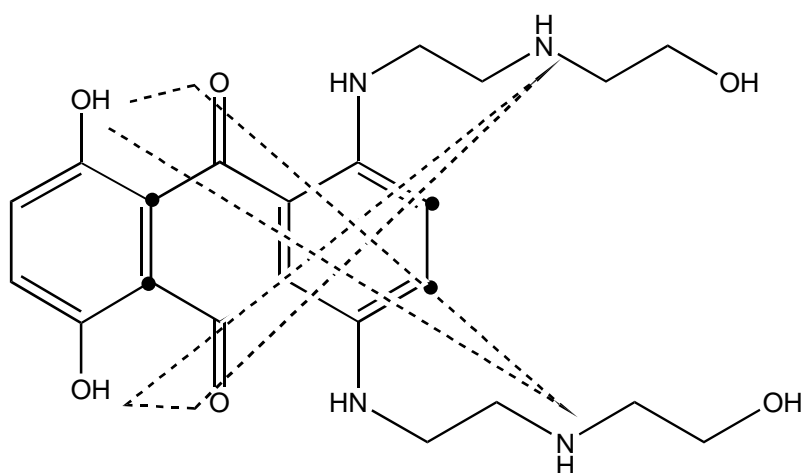


Figura 15. Mitoxantrona.

En contraposición a la síntesis de antibióticos de antraciclina, la síntesis de análogos a la Mitoxantrona a partir del AC pudiera ser una opción más barata ya que éste se extrae de la cochinilla, una fuente natural renovable.

A partir del análisis de información sobre estructura y actividad anticancerígena de compuestos antraquinoides se plantea lo siguiente:

Si se incorpora una cadena lateral que contenga el grupo funcional amino en el AC, de tal manera que presente el farmacóforo triangular N-O-O, entonces la actividad de este derivado presentará mayor actividad anticancerígena que el AC.

Otro uso con importancia médica del AC es como antimicrobiano (AM); además de que se ha demostrado que no es tóxico en peces y seres vivos superiores; pero si se ha demostrado que algunos microorganismos son sensibles a este pigmento como es el caso de *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus Níger (I)*, *Aspergillus flavus (II)* y *Salmonella enteritidis* entre otros.<sup>139-148</sup>

Otra aplicación médica relevante del AC es en relación a cálculos renales y problemas gastrointestinales (CG). En estos casos el AC es empleado para prevenir la formación de cálculos renales o disolverlos en caso de que estos estén presentes. Se tiene como dato importante que disuelve principalmente oxalato de calcio urinario y cálculos de fosfato.<sup>125,126</sup> Esto posiblemente se debe a que el ácido carmínico tiene alta capacidad para capturar iones de calcio. Además se dio a conocer en el año de 1983 que el AC, junto con otros derivados de antraquinona, sirve para estimular el apetito.<sup>127-129</sup>

Por otro lado, el AC presenta una interacción con el sistema inmunológico (SI) ya que los pigmentos de antraquinona en la comida (como el AC) suprimen las actividades genotóxicas de algunos mutágenos al inhibir las isoenzimas responsables de la activación de mutagenos.<sup>132-134</sup>

Se ha observado la relación que tiene el AC con el sistema cardiovascular (SC), en donde se ha empleado principalmente para inhibir cuadros de trombosis.<sup>130,131</sup>

Entre otras aplicaciones menos frecuentes están las odontológicas (O) para indicar el grado de higiene bucal al poder teñir con el AC las suciedades presentes en la dentadura y mantener el cuidado y limpieza de los dientes.<sup>136,137</sup>

El AC también se ha utilizado en casos de desintoxicación (D) por medio de la formación de complejos. Dado que es un compuesto polar; se facilita la excreción de los tóxicos. Se han realizado estudios en ratas a las cuales se les ha aplicado trióxido de arsénico y plomo.<sup>122-124</sup> La capacidad del AC para complejar metales podría utilizarse en la desintoxicación de los mineros o en pueblos enteros que se dedican a la minería.

Además se ha descrito que el AC puede ser empleado para tratar enfermedades virales como el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), ya que se ha demostrado en el año de 1996 que quinonas con uno, dos y tres anillos aromáticos son una nueva clase de inhibidores no peptídicos micromolares de VIH-1 proteinasa, una enzima esencial para la replicación del VIH.<sup>77,135</sup>

Finalmente, una aplicación poco común del AC es para tratar el mal de Parkinson y Alzheimer (P). En el 2001 se describió que compuestos aromáticos polihidroxilados son útiles para el tratamiento de amiloidosis, especialmente en enfermedades de Alzheimer y Parkinson.<sup>138</sup>

Un análisis general en el Chemical Abstract desde 1914 hasta el 2004 permite observar que a través de los años la diversificación de los usos del AC se ha ido incrementando (Gráfica 3), en 1914 se demostró la afinidad de las células tomadas de varios tejidos oculares con el ácido carmínico,<sup>150</sup> después de esta fecha y en las décadas de 1924-1933 y 1934-1943 se presenta solo un estudio sobre la aplicación del AC para desintoxicar conejos a los que se les administró plomo, se puede decir que el hecho de que en estas décadas no existan más estudios sobre aplicaciones médicas puede deberse a que durante ese tiempo se llevó a cabo el periodo de post-guerra de la Primera Guerra Mundial(1914-1918).



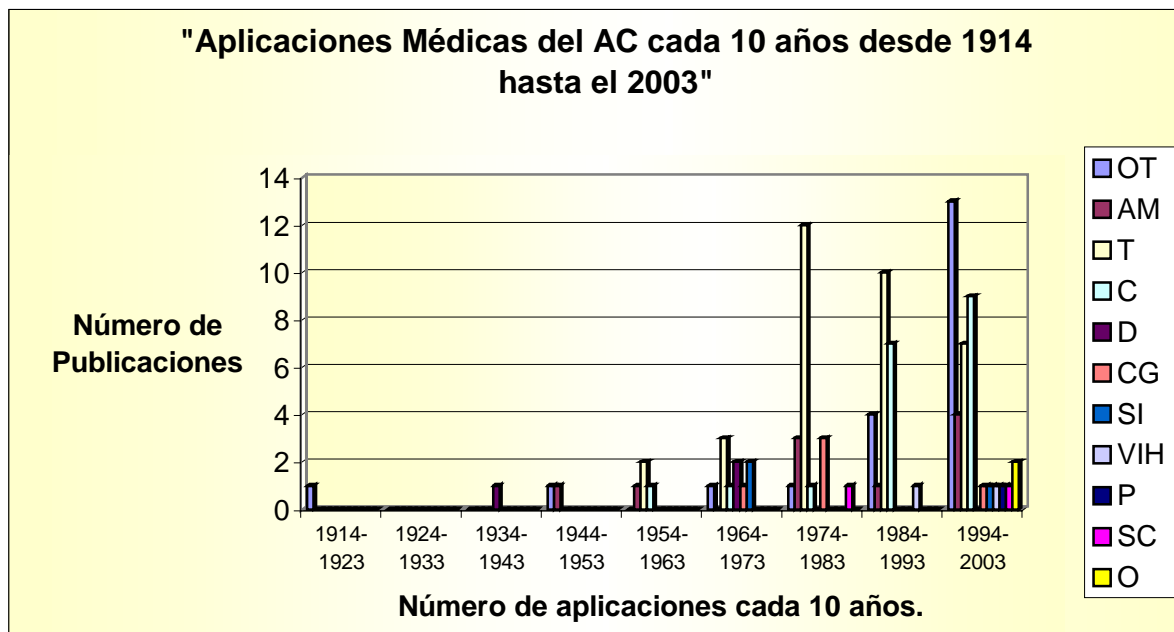
En la década de 1944-1953 se logran apreciar las primeras aplicaciones del AC como AM y otras aplicaciones médicas (OT). Los primeros estudios de toxicidad y aplicaciones en cáncer se reportan en la década de 1954-1963, misma en donde continúan sus estudios como AM. Además, como se puede observar en la Gráfica 3, a partir de 1964 hasta el 2003, el AC presenta mayor variedad de aplicaciones médicas.

En la década de 1964-1973 continúan sus estudios de toxicidad y aplicación contra el cáncer, pero además aparecen estudios sobre aplicaciones médicas sobre el sistema inmunológico, en desintoxicaciones, cálculos renales, aparato gastrointestinal y otras.

En la década de 1974-1983 se presenta el mayor número de estudios realizados sobre la toxicidad del ácido carmínico y de igual forma se mantienen los estudios sobre cáncer y otras aplicaciones médicas, incrementándose un poco sus estudios como antimicrobiano y en cálculos renales y aparato gastrointestinal. En esta década aparece la interacción del AC sobre el sistema cardiovascular.

Durante la década de 1984-1993 prevalecen los estudios sobre su toxicidad; además de que se incrementan sus aplicaciones como anticancerígeno y otras aplicaciones muy diversas. En esta década continúan sus estudios como antimicrobiano y aparece una aplicación que se le da al AC para tratar enfermedades virales como el VIH.

Grafica 3. Aplicaciones Médicas. <sup>69-103,105-169.</sup>



Finalmente se observa que en la última década que va desde 1994 hasta el 2003 se presentan todas las aplicaciones médicas antes mencionadas; excepto para desintoxicaciones, Grafica 4, ya que estas son mínimas. Además es muy elevada la cantidad de aplicaciones poco usuales (OT) del AC, cabe mencionar que cuando se

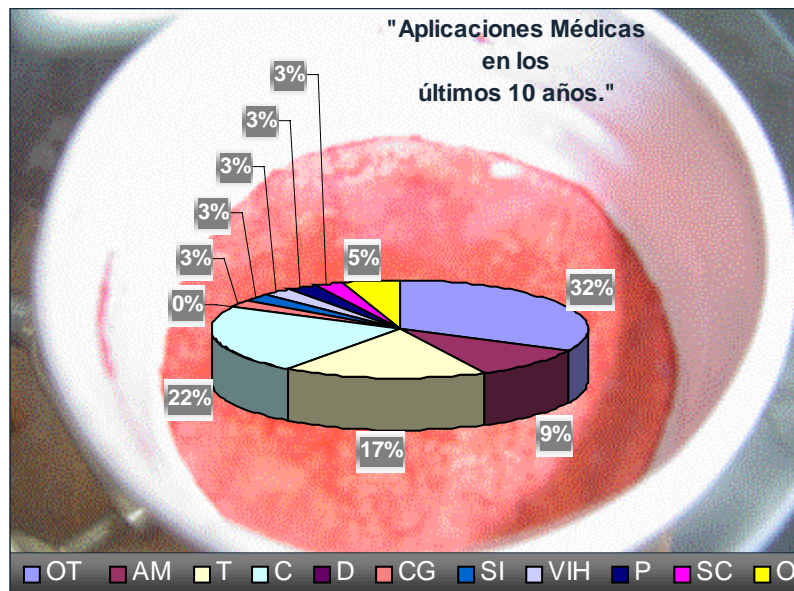
refiere a otras aplicaciones se entiende así cuando se presentan diversos estudios en donde el AC interviene en diferentes rutas metabólicas llevadas a cabo comúnmente en los organismos vivos, mismas en las que el AC inhibe o activa los diversos metabolitos intermediarios presentes en estas, un ejemplo de los múltiples encontrados como otras aplicaciones es el descubrimiento efectuado en 1996 en donde el AC inhibe la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa,<sup>158</sup> una enzima importante para poder convertir la glucosa 6-fosfato en 6-fosfoglucono-d-lactona, la cual es una reacción individual que favorece la ruta de las pentosas fosfato, que es una ruta alternativa para la degradación de la glucosa, cuya función principal es la de producir NADPH y la ribosa-5-fosfato, el precursor de los ácidos nucleicos a partir de la glucosa 6-fosfato.<sup>180</sup> De este modo, si se está llevando la degradación de la glucosa 6-fosfato por medio de esta ruta y el cuerpo no requiere que se genere más energía, el AC pudiera ser una opción viable para detener este mecanismo.

Por último, organizando la información de los últimos años, se puede observar en la Gráfica 4 que predominan las investigaciones del AC como anticancerígeno y aunque continúan los estudios de toxicidad estos han disminuido en relación ha otras décadas.

Por otro lado, los estudios como antimicrobiano continúan pero se incrementaron en relación a las décadas anteriores.

En esta década aparecen nuevas aplicaciones en odontología, Alzheimer y mal de Parkinson entre otras.

Gráfica 4. Aplicaciones Médicas en los últimos 10 años.  
79-83, 94,101-103,114-117,119-121,129,131,132-138,145-148,157-169.



## 6.2 Extracción del AC.

Existe poca información sobre los métodos de purificación y extracción del AC.<sup>181</sup> Sin embargo en este trabajo se aporta una técnica de extracción del AC que implica agua como disolvente y microondas como fuente de energía, encontrando así un método de extracción aplicando la química verde.

Los dos primeros experimentos de extracción del AC a partir de la grana cochinilla inicialmente planteados fueron con grana sin desengrasar y desengrasada con hexano. Para estos experimentos se utilizó parrilla de calentamiento entre 65-70°C y utilizando agua como disolvente, como se observa en la Tabla 2. Así mismo se logro obtener un mejor rendimiento de laca de calcio y AC con la cochinilla desengrasada bajo esas condiciones, Tabla 3. Además el AC obtenido de la cochinilla sin desengrasar es difícil de cristalizar, de apariencia chiclosa y por lo tanto poco manejable.

Debido a que se obtuvieron mejores cristales con cochinilla desengrasada, el siguiente paso fue comparar la influencia de la temperatura, experimento 2 y 3. En el experimento 2 la temperatura de extracción fue de 65-70°C, mientras que en el experimento 3 fue a 92°C, Tabla 2. Como se puede ver el rendimiento no aumenta apreciablemente (0.84%), Tabla 3, experimento 2 y 3.

Tabla 2. Condiciones empleadas en los diversos métodos de extracción.<sup>a</sup>

Experimento	Cochinilla	Temperatura (°C)	Equipo	Tiempo (min.)
1	Sin desengrasar	65-70	Parrilla Eléctrica.	10
2	Desengrasada	65-70	Parrilla Eléctrica.	10
3	Desengrasada	92	Parrilla Eléctrica.	10
4	Desengrasada	92	Microondas.	3
5	Desengrasada	92	Microondas.	5

a. A partir de 10g. de grana cochinilla. El disolvente utilizado fue aguadestilada(150mL).

Tabla 3. Rendimientos obtenidos de laca y AC bajo diversas condiciones.

Experimento	Extracciones de la laca de Carminato de Calcio			AC crudo obtenido (g)
	1ra. (g)	2da. (g)	3ra. (g)	
	% <sup>a</sup>	%	%	
Total % de AC extraído. <sup>b</sup>				
1	54.89	32.37	12.74	0.2795
	18.3			
2	69.82	22.05	8.13	0.4269
	16.71			
3	64.65	27.30	8.05	0.4588
	17.55			
4	<b>78.57</b>	<b>14.53</b>	<b>7.00</b>	<b>0.3272</b>
	<b>16.06</b>			
5	62.244	23.934	13.822	0.2787
	15.31			

a. Por ciento de laca de calcio respecto al total obtenido.

b. Calculado a partir de la laca de carminato de calcio obtenido.

Posteriormente bajo las mismas condiciones del experimento 3, que como se logra observar es mejor que el experimento 1 y 2, se llevó acabo el experimento 4, Tabla 2; En este se realizó una extracción calentando con microondas durante tres minutos. Se logró obtener casi el mismo rendimiento que con calentamiento convencional, experimento 3, Tabla 3, solo que en menos tiempo. Además, se tiene la ventaja de obtener mayor cantidad de carminato de calcio (78.6%) en la primera extracción con microondas que por el método tradicional (64.7-69.8%). En la figura 16 se presenta el sistema de calentamiento tradicional por medio de parrilla eléctrica y el método verde por microondas.



Figura 16. Método tradicional de calentamiento y método verde con microondas, de izquierda a derecha respectivamente.

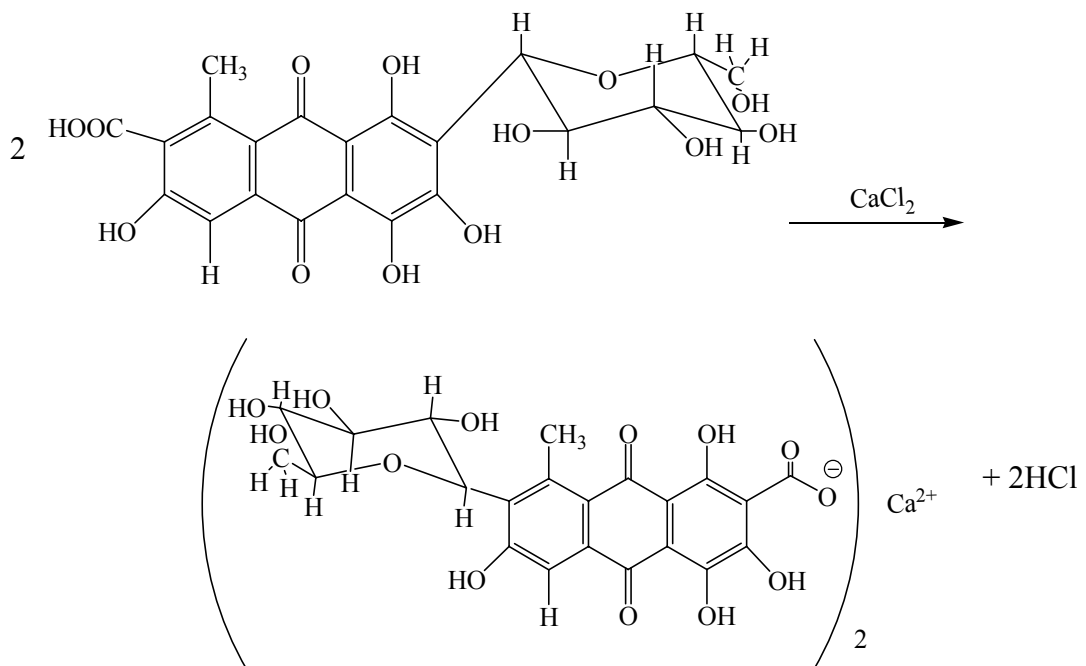
De esta forma, se aplicó una de las herramientas de la química verde que consiste en utilizar la radiación de microondas como fuente alterna de energía.

Posteriormente se comparó el tiempo de extracción de AC por calentamiento con microondas, experimentos 4 y 5 de la Tabla 2. Se logró observar en la Tabla 3 que se obtiene ligeramente menor rendimiento de laca y de AC con dos minutos más de calentamiento. Esto pudiera deberse a una contaminación por disolución de otros componentes de la grana, tales como proteínas o de aminoácidos originados por la hidrólisis de aquellas. Otra posibilidad pudiera ser la descomposición del AC con tiempos prolongados de temperatura en microondas.

Otra observación en relación al calentamiento tradicional y el de microondas es que cuando se llevó a cabo la extracción por calentamiento tradicional, después de dejar el extracto de AC por varios días se observó crecimiento de hongos en la parte superior del extracto. Cuando se realizó la extracción por calentamiento con microondas y se dejó el extracto por varios días, este no presentó crecimiento de microorganismos, razón por la cual se cree que el microondas puede ser un medio para esterilizar. Posiblemente los microorganismos se destruyen por el rompimiento de sus membranas cuando las radiaciones de MO interactúan con el agua y los iones presentes dentro de sus paredes celulares.

En base a los resultados obtenidos, se concluye que las mejores condiciones para la extracción del AC son las que se indican en el experimento 4 ya que es un método verde que requiere menor tiempo de extracción y menor energía en relación al método tradicional. Además de que se obtienen buenos rendimientos, el producto crudo obtenido por esta técnica es más manejable y su color es más brillante.

La reacción que se llevó a cabo para la formación del carminato de calcio es la siguiente<sup>181</sup>:



En la Figura 17 de izquierda a derecha se apreciar el aspecto y cantidad de carminato de calcio (laca) obtenido en la primera, segunda y tercera extracción.



Figura 17. Carminato de calcio de la primera, segunda y tercera extracción. (De izquierda a derecha).

En la figura 18 se muestra el AC crudo obtenido después de liberarlo con ácido sulfúrico, filtrar y evaporar el etanol.



Figura 18. AC crudo.

La economía atómica de la reacción para la formación del carminato de calcio es de 99.62%.

### 6.3. Purificación del AC.

Para obtener cristales más puros se llevaron a cabo pruebas de cristalización con distintos disolventes, tales como: ácido acético/agua (5:1), Metanol, Etanol, Etanol/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , Etanol/Benceno. Estos sistemas de disolventes están clasificados de mayor a menor polaridad.

El AC no cristalizó en Etanol/Benceno ni en Etanol/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Aunque cabe mencionar que en Etanol después de varios días se obtienen pocos cristales.

Con la cristalización de ácido acético/agua (5:1), se logró obtener 11.8% de rendimiento de AC a partir del producto crudo dejando una disolución sobresaturada por 5 días. La cristalización con metanol dio un 43.4% de rendimiento. En la figura 19 se observa el AC obtenido por cristalización de metanol.



Figura 19. Cristales de AC obtenidos con metanol.

El compuesto se caracterizó por espectroscopia de IR y RMN-H<sup>1</sup> y RMN-C<sup>13</sup>, los cuales coinciden con los descritos en la literatura.<sup>66, 182</sup>

#### 6.4. Acetilación del AC.

Para cada una de las reacciones de acetilación se partió de 0.2g de AC. El AC acetilado sin catalizador dio 0.0953g del producto A1. El color naranja-rojizo de A1, Figura 20 indica que no se llevó a cabo su completa acetilación, esto se comprobó al realizar una cromatografía en capa fina, Figura 21.

La acetilación de AC utilizando una gota de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> como catalizador generó 0.1190g del compuesto A2.. Este es de color amarillo, Figura 20. De la literatura se tiene el dato de que el AC octaacetilado es de color amarillo.<sup>66</sup>

La acetilación de AC utilizando trazas de I<sub>2</sub> como catalizador generó 0.1889g del compuesto A3. Este también es de color amarillo, Figura 20..



Figura 20. Compuestos obtenidos durante la acetilación, en donde de derecha a izquierda se tiene a el AC, el compuesto A1, el compuesto A2 y el compuesto A3.

La cromatoplaqa de la Figura 21 indica que es necesaria la adición de un catalizador de Lewis para la completa acetilación del AC, tales como  $H_2SO_4$  o  $I_2$ .

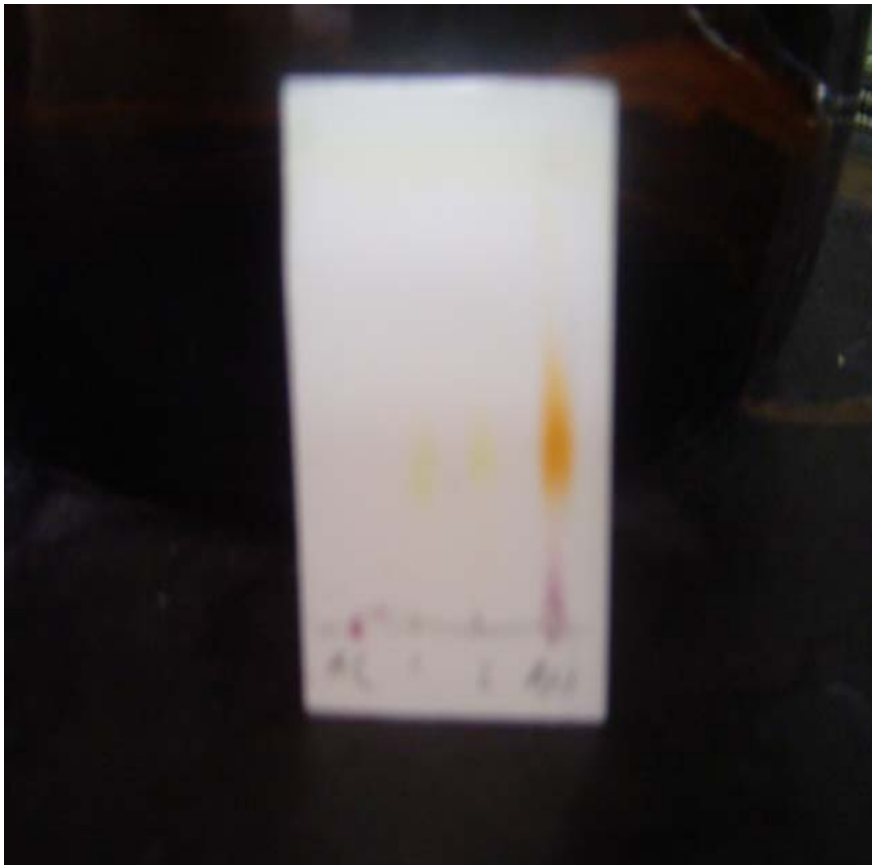
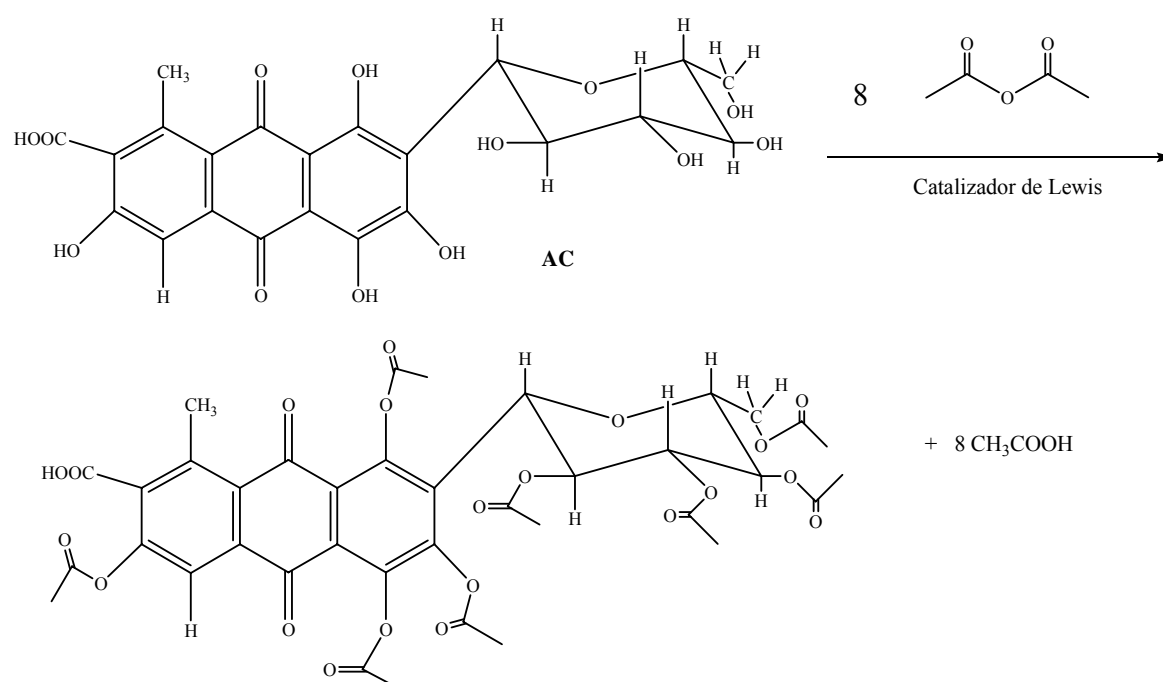


Figura 21. Placa cromatográfica que presenta de izquierda a derecha AC, AC octaacetilado, compuesto A2 y compuesto A1.



La reacción de acetilación del AC que se llevó a cabo es la siguiente:



Los productos acetilados se caracterizaron por espectroscopia de IR y de RMN- $H^1$ . El IR del octaacetilado no muestra las señales correspondientes para los oxhídricos que tenía originalmente el AC. Por otro lado, en la RMN aparecen las señales de los metilos del grupo acetilo. Lo anterior indica que efectivamente se llevó a cabo la acetilación del AC.

Como se puede observar se obtiene mayor rendimiento del compuesto A3 que del compuesto A2, lo cual nos indica que es mucho mejor la acetilación por la adición de trazas de yodo., Tabla 4.

Tabla 4. Acetilación del AC

Producto acetilado	Catalizador	%R
A1	-	47.95
A2	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	59.88
A3	I <sub>2</sub>	95.05

La economía atómica en la reacción de acetilación fue de 61.79 % . Como se puede ver no es una economía atómica ideal, pero si buena ya que el 38.21% del peso de las moléculas de los reactivos no se incorporaron en el producto acetilado.

### 6.5. Pruebas de solubilidad del AC en grasa vegetal

Se llevaron a cabo pruebas de solubilidad en grasa vegetal con los cristales de AC, con el compuesto A1 y con el compuesto A2. Como se observa en la Figura 22, el AC y A1 no son liposolubles como se esperaba; debido a que tienen oxhidrilos en su estructura; mientras que el compuesto A2 fue liposoluble por estar peracetilado.

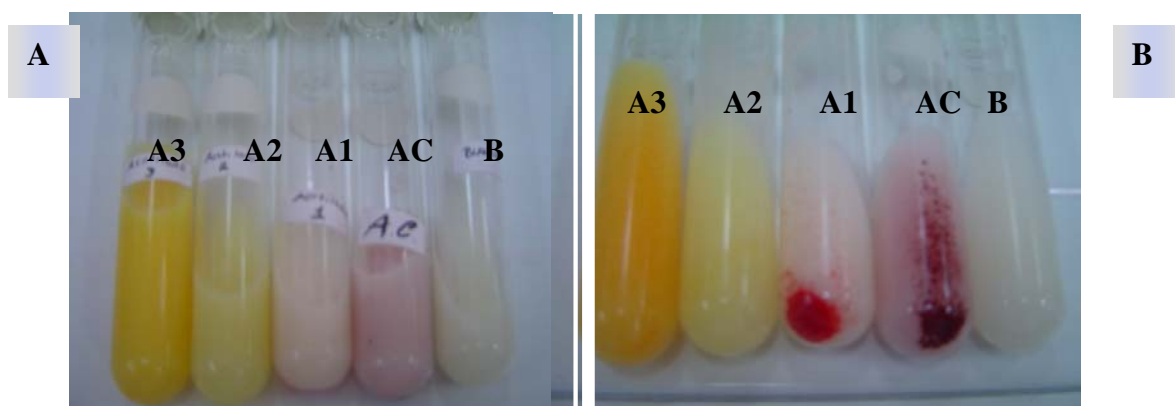


Figura 22. A. Parte frontal. B. Parte Posterior.

## **7. CONCLUSIONES**

En este trabajo se llevó a cabo una revisión bibliográfica en Chemical Abstract desde el año 1908 hasta el 2004, sobre aplicaciones médicas del AC. De esta revisión se resalta que el AC sirve para tratar la enfermedad de Parkinson, Alzheimer, Virus de Inmunodeficiencia Humana, Sistema Cardiovascular, Odontología, Desintoxicaciones, Sistema inmunológico, Cálculos Renales y problemas Gastrointestinales. El AC es un viejo colorante con una nueva e importante aplicación: "Es un Anticancerígeno" y su actividad puede incrementarse con la incorporación de grupos funcionales u otras sustancias, tales como el ácido láctico.

A inicios del siglo XX se pensaba que el AC era tóxico, actualmente múltiples estudios han demostrado que no lo es. Además presenta importantes propiedades antimicrobianas contra bacterias patógenas.

A partir del análisis de información sobre estructura y actividad anticancerígena de compuestos antraquinoides se plantea lo siguiente:

Si se incorpora una cadena lateral que contenga el grupo funcional amino en el AC, de tal manera que presente el farmacóforo triangular N-O-O, entonces la actividad de este derivado presentará mayor actividad anticancerígena que el AC.

Por otro lado se realizaron varios experimentos para extraer, purificar y formar un derivado peracetilado del AC. Para ello, se aplicaron distintas herramientas de la QV.

Las herramientas de la QV se aplicaron en los siguientes procesos:

- Obtención del AC como un principio activo extraído a partir de la grana cochinilla usada como materia prima renovable.
- Extracción del AC utilizando agua como disolvente.
- Calentamiento con microondas como fuente alterna de energía.
- Uso de catalizadores y cálculo de la economía atómica en la reacción de acetilación del AC.

En la extracción del AC se obtuvieron rendimientos aceptables y económicos utilizando las herramientas de la QV en comparación con los métodos tradicionales.

El AC no cristaliza en: Etanol/Benceno, Etanol/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Aunque en Etanol después de varios días se obtienen pocos cristales. De la cristalización de ácido acético/agua (5:1), se logró obtener 11.8% de rendimiento de AC a partir del producto crudo dejando la solución saturada por 5 días. Mientras que la cristalización con metanol se logró obtener un 43.4% de rendimiento. En base a esto se puede concluir que los mejores rendimientos y aspecto de los cristales de AC se obtuvieron por cristalización de metanol.

Se obtuvo un derivado peracetilado de AC con una economía atómica de 63.30% y un rendimiento del 95.05%. Este rendimiento se obtuvo cuando se utilizaron trazas de yodo como catalizador. El derivado es liposoluble y de color amarillo con perspectivas para teñir cosméticos y alimentos ricos en sustancias grasas.

"El tratamiento de enfermedades como el cáncer y el VIH, entre otras, podrían ser combatidas por un viejo colorante rojo, extraído por un proceso verde."

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

1. Thornton, J., *Pure App.Chem.* **73** (8), 1231-1236 (2001)
2. Anastas, P.T., Heine, L.G., Williamson, T.C., *Green Chemistry Synthesis and Processes*. Introduction, Green Chemistry Synthesis and Processes; Anastas, P.T., Heine, L.G., Williamson, T.C., Eds.; American Chemical Society; Washington, DC, Chapter 1, (2000)
3. Anastas, P.T., Kirchoff, M.M., *Acc. Chem. Res.* **35**, 686-694(2002)
4. Anastas, P. T., Warner, J. C., *Green Chemistry. Theory and Practice*. Oxford University Press: New York, 30 (1998)
5. Sheldon, R.G., *Chem. Ind.* 903-906, (1992)
6. Trost Barry, M., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34**, 259 – 281 (1995)
7. McKenzie, L.C., Huffman, L.M. and Hutchison J.E., *J. Chem. Ed.* **82** (2) 306-310. (2005)
8. Anastas, P.T., Kirchoff, M.M., Williamson, T.C., *Appl. Catal. A: Gen.*, **221** (1-2), 3-13. (2001)
9. Mubofu, E. B., Clark, J.H., Macquarrie, D.J. *Green Chem.*, 3 (1), 23-25. (2001)
10. Collins, T.J., *Acc. Chem. Res.* **35** (9) 782-790 (2002)
11. Stanley, M.R., *J. Chem. Ed.* **77**, (3) 344-348, (2000)
12. Crueger, W., Crueger, A., *Bioteología : Manual de Microbiología Industrial*. Editorial Acribia. España. 249-261. (1989)
13. Loupy, A., Petit, A., Hamelin, J., Texier-Boulet, F., Jacquault, P., Mathé, D., *Synthesis*. 1214-1234 (1998)
14. Deshayes, S., Liagre, M., Loupy, A., Luche, J-L., Petit, A., *Tetrahedron*. **55**, 10852-10870(1999)
15. Bose, A.K., Manhas, M.S., Ganguly, S. N., Sharma, A.H., Banik, B. K., *Synthesis*, (11) 1578-1591 (2002)
16. Einhorn, C., Einhorn, J., Luche, J-L., *Synthesis*. 787-813 (1989)
17. <http://www.gallawa.com/microtech/historia-microonda.html>
18. Lidström, P., Tierney, J., Wathey, B., Westman J., *Tetrahedron*. **57**, 9225-9283. (2001)
19. Gedye, R., Smith, F., Westaway, K., Ali, H., Baldisera, L., Laberge, L., and Rousell, J., *Tetrahedron Lett.*, **27**, 279. (1986)
20. Giguere, R. J., Bray, T.L., Duncan, S. M., and Majetich, G., *Tetrahedron Lett.*, **27**, 4945. (1986)
21. Sarah L. Cresswell, Stephen J. Haswell. *J. Chem. Ed.* **78** (7) 900 – 904. (2001)
22. Gholam A. Mirafzal and Jolene M. Summer *J. Chem. Ed.* **77** (3) 356 – 359.
23. Marie E. Lucchesi, Farid Chemat, Jacqueline Smadja. *Journal of Chromatography A*, **1043**, 323-327. (2004)
24. Rajender S. Varma and Rajesh K. Saini. *Tetrahedron Letter.*, **38** (25) 4337 – 4338. (1997)
25. Vidal, T.; Petit, A.; Loupy, A.; Gedye, R. N. *Tetrahedron*, **56**, 5473-5478. (2000)
26. Bose A.K., Manhas M.S., Ganguly S.N., Sharma A.H., Banik B.K. *Synthesis*. 1578-1591(2002)
27. Tanaka, K. y Toda F. *Chem. Rev.* 100, 1025- 1074 (2000)
28. Lindström, U.M. *Chem. Rev.* 102, 2751-277 (2002)
29. Welton, T. *Chem. Rev.* **99**, 2071-2083(1999)
30. Zhao, D., Wu, M., Kou, Y., Min, E. *Catalysis Today*. **74**, 157-189(2002)
31. Leitner, W. *Acc. Chem. Res.* **35**, 746-756 (2002)

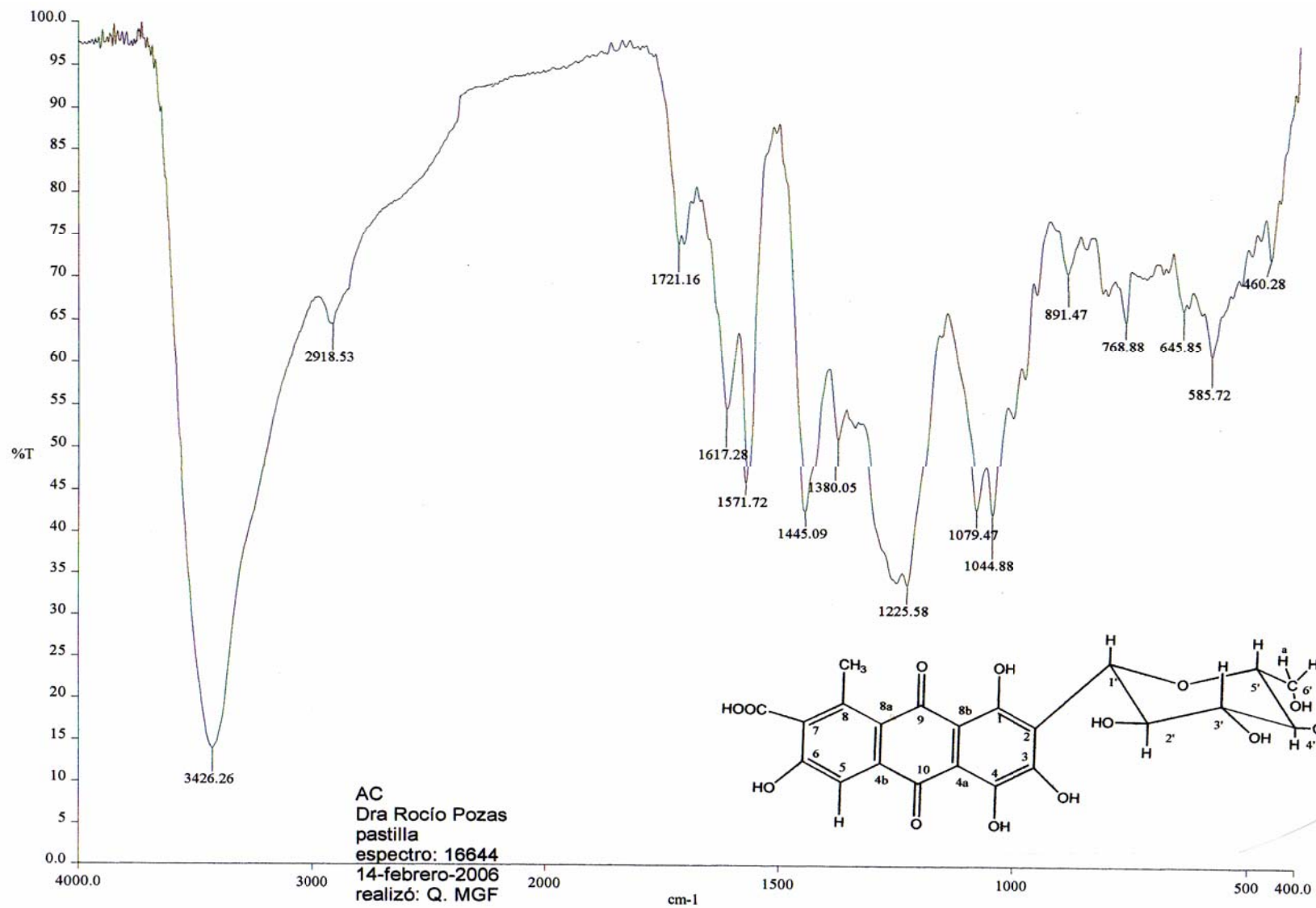
32. Horváth, I.T. *Acc. Chem. Res.* **31**, 641-650 (1998)
33. Mogilaiah, K., Reddy, N.V. and Reddy, G.R. *Synth. Comm.* **33** (18) pp. 3109 – 3113. (2003)
34. Chao-Jun Li, Dong Wang. *Chemtracts – organic chemistry* **16** pp. 59-78. (2003)
35. Lubineau, A. *Chemistry & Industry*. No. 4 pp. 123 – 126 (19 Febrero 1996)
36. Rideout D.C., Breslow R.J. *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 7816 (1980)
37. Biermann, U., Friedt, W., Lang, S., Lühs, W., Machmüller, G., Metzger, J.O., Klaas, M.R., Schafer, H.J. y Schneider, M.P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **39**, 2206-2224 (2000)
38. Lichtenthaler, F.W. *Acc. Chem. Res.* **35**, 728-737(2002)
39. Lichtenthaler, F.W., Brust, A., Eckehard, C. *Green Chemistry.* **3** (5), 201-209, (2001)
40. Szmant, H.H. *Organic Building Blocks of the Chemical Industry*; Wiley: New York, 1989; p 4
41. Usui, Y. y Sato, K. *Green Chemistry.* **5**, 373-375(2003)
42. Draths, M., Frost, J.W. *Improving the environment through process changes and product substitutions*. In *Green Chemistry: Frontiers in Benign Chemical Syntheses and Processes*; Anastas, P.T., Williamson, T.C., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, Chapter 12. (2000)
43. Carrillo Chavez M. *Microescala: Química General; Manual de Laboratorio*, Pearson Education 4ta. Edición. México. (2002)
44. <http://64.233.179.104/search?q=cache:ipzwxco5gZ0J:www.fquim.unam.mx/sitio/edquim/111/111-mic1.pdf+quimica+en+microescala&hl=es&gl=mx&ct=clnk&cd=7>
45. Baizer, M.M., *Organic Electrochemistry*. Tercera ed. Marcel Dekker, New York(1991)
46. Lund, H.J. *Electrochem. Soc.* **149** (4) S21-S33 (2002)
47. Rusling, J.F. *Pure Appl. Chem.* **73** (12), 1895-1905 (2001)
48. Matthews, M.A. *Pure Appl. Chem.* **73** (8) 1305-1308 (2001)
49. Kirk-Othmer, Zuckerman S., Senackerrib. *Enciclopedia of Chemical Thecnology*, Interscience Publishiers Inc., **Vol. 6**, pp. 567.
50. Jerónimo Suárez, M. y Núñez. *Arte de teñir las lanas, sedas. Hilo y algodón* Tomo I Memoria XIII. Sobre el modo de criar la cochinilla o grana de América hacer su cosecha, abogarla etc. Imprente de Pedro Marín, Madrid. (1779)
51. Noguera, E., *Invertebrados en culturas prehispánicas*, en *Anales de Antropología*, pp. 135.
52. Fleming Stuart, *El cuento de la cochinilla; cultivo en el mundo Prehispánico*. Segundo Congreso Nacional y Primer Congreso Internacional de Tuna y Cochinilla, Diciembre, Ayacucho, Perú.(1998)
53. Alzate y Ramírez Jose, *La Naturaleza* (Sociedad Mexicana Historia Natural) tomo 6. pp. 14-21. (1882-1884)
54. Idem (51) op. Cit. pp. 15-19.
55. Contreras Sánchez Alicia del Carmen, *Capital Comercial y colorantes en la Nueva España segunda mitad del siglo XVIII*, Ed. Colegio de Michoacán pp. 37. (1996)
56. Héctor Pérez Brignoli, *Historia General de Centro América, de la ilustración al liberalismo, 1750-1870, tomo III.*
57. Idem (50) pp. 20.
58. C.A.**133**, 290409u. (2000)

59. C.A.**134**, 231260m. (2001)
60. C.A.**132**, 346802r (2000)
61. C.A.**122/17**, 238115d (1995)
62. C.A.**135**, 343637s. (2001)
63. C.A.**132**, P307602f. (2000)
64. C.A.**132**, P127467g. (2000)
65. C.A.**132**, P127471d. (2000)
66. Allevi, Anastasia M., Bigham S., Pierangela C., Fiecchi A., Cighetti G., Muir M., Scala A. y Tyman J. *J. Chem Soc., Pekín Trans. I*, pp. 575-582 (1998).
67. Windholz, M., The Merck Index 10<sup>th</sup> Edition. Ed, Merck and Co. Rahway NJ. (1983)
68. Aldrich (02), Buckingham (05), Sax (47), Windholz (62)
69. C.A.**49**, 9796d. (1955)
70. C.A.**54**, 16681b. (1960)
71. C.A.**57**, 7749b. (1962)
72. C.A.**62**, 7845f. (1965)
73. C.A.**104**, 14661u. (1986)
74. C.A.**107**, 33146h. (1987)
75. C.A.**112**, 131995g. (1990)
76. C.A.**112**, 191470s. (1990)
77. C.A.**116/1**, P76356e. (1992)
78. C.A.**118**, P132127m (1993)
79. C.A.**124/15**, 193584d. (1996)
80. C.A.**129/13**, 156574h. (1998)
81. C.A.**113**, 104431x. (2000)
82. C.A.**134**, 320852y. (2001)
83. C.A.**138**, 326369a. (2003)
84. C.A.**73**, p59307r. (1970)
85. C.A.**74**, 11795s. (1971)
86. C.A.**85**, 117527y. (1976)
87. C.A.**88**, 69649c. (1978)
88. C.A.**91**, 187631a. (1979)
89. C.A.**91**, 73249b. (1979)
90. C.A.**91**, 117505p. (1979)
91. C.A.**93**, 198681j. (1980)
92. C.A.**93**, 237073j. (1980)
93. C.A.**92**, 87899w. (1980)
94. C.A.**94**, 151576j. (1981)
95. C.A.**98**, P40608j. (1983)
96. C.A.**107**, 95497g. (1987)
97. C.A.**108**, 217568z. (1988)
98. C.A.**108**, 93247x. (1988)
99. C.A.**108**, 93249z. (1988)
100. C.A.**112**, 131994f. (1990)
101. C.A.**112**, 23296c. (1995)
102. C.A.**121**, 151008b. (1994)
103. C.A.**130**, 162735y. (1999)



104. Galvez, J., Gomez, M.J., *Biorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **6** 19 2301-2306, (1996).
105. C.A.**90**, 136344f. (1979)
106. C.A.**98**, 159255g. (1983)
107. C.A. **99**, 51994d . (1983)
108. C.A.**105/4**, 2015u. (1986)
109. C.A.**116**, 5449b. (1992)
110. C.A.**106**, 65999j. (1987)
111. C.A.**77**, 160564e. (1972)
112. C.A.**87**, 63589r . (1977)
113. C.A.**110**, 2599r. (1989)
114. C.A.**120**, 53160e. (1994)
115. C.A.**122**, 180561c. (1995)
116. C.A.**125/21**, 265283a. (1996)
117. C.A.**132**, 193432t. (2000)
118. C.A.**109**, 185164s. (1988)
119. C.A.**130/6**, 65475f. (1999)
120. C.A.**135**, 209802p. (2001)
121. C.A.**138**, 406027c. (2003)
122. C.A.**67/14**, 72048c. (1967)
123. C.A.**69**, 1729f. (1968)
124. C.A.**34**, 5544. (1940)
125. C.A.**97/1**, P120487p. (1982)
126. C.A.**98/1**, P83590q. (1983)
127. C.A.**72**, 6245s. (1970)
128. C.A.**98**, 69178e. (1983)
129. C.A.**128/18**, 212592f. (1998)
130. C.A.**80**, 10415e. (1974)
131. C.A.**122/17**, 238115d. (1995)
132. C.A.**62**, 12129b. (1965)
133. C.A.**78**, 81802y. (1973)
134. C.A.**138**, 118745t (2003)
135. C.A.**124/5**, 44757k. (1996)
136. C.A.**122/62**, P248063z. (1995)
137. C.A.**138**, 95572t. (2003)
138. C.A.**135**, 102574p. (2001)
139. C.A.**47**, 1006i. (1953)
140. C.A.**59**, 7901d. (1963)
141. C.A.**89/4**, 158478j. (1978)
142. C.A.**95/1**, P91202t. (1981)
143. C.A.**96**, 118851p. (1982)
144. C.A.**108/1**, 161000p. (1988)
145. C.A.**124/26**, P352754c. (1996)
146. C.A.**131/2**, P23535r. (1999)
147. C.A.**133**, P355241e. (2000)
148. C.A.**137**, 375344b. (2002)
149. C.A.**108/17**, 93248y. (1988)

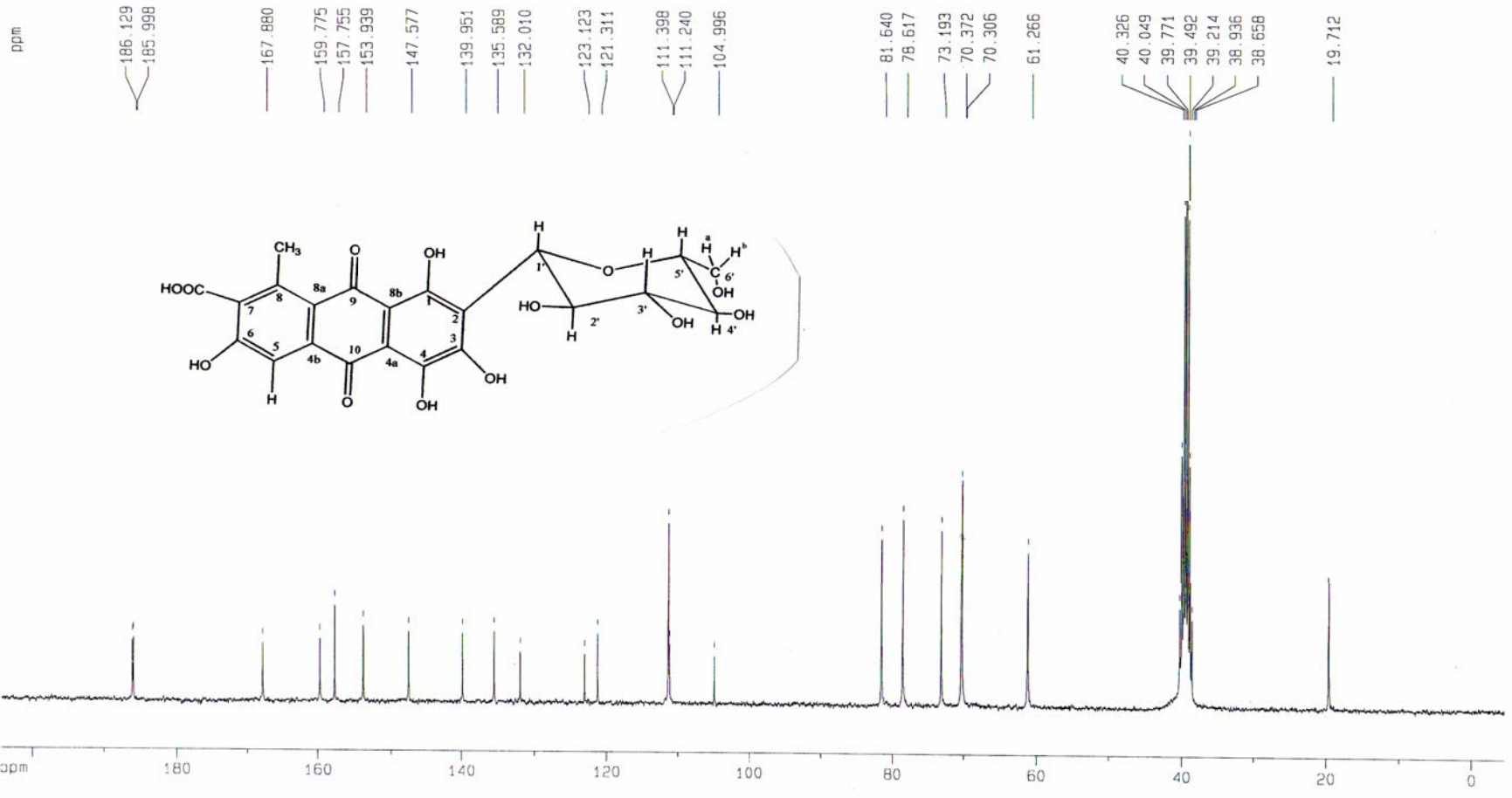
150. C.A.**8**, 1146. (1914)
151. C.A.**38**, 5330. (1944)
152. C.A.**79**, 62340a. (1973)
153. C.A.**97/7**, 158611n. (1982)
154. C.A.**100/4**, 1637h. (1984)
155. C.A.**101**, 3772t. (1984)
156. C.A.**119**, 133265n. (1993)
157. C.A.**121**, 169761b. (1994)
158. C.A.**124/13**, 173937t. (1996)
159. C.A.**124/13**, 173954w. (1996)
160. C.A.**124/19**, 249637t. (1996)
161. C.A.**125/23**, P293026n. (1996)
162. C.A.**129/16**, 197664f. (1998)
163. C.A.**130/13**, 162735y. (1999)
164. C.A.**130/4**, 35133a. (1999)
165. C.A.**132**, 34921k. (2000)
166. C.A.**133**, 101417m. (2000)
167. C.A.**133**, 68716h. (2000)
168. C.A.**137**, 27783s. (2002)
169. C.A.**139**, 363503f. (2003)
170. Gonzalez M., Méndez J., Carner A., Lobo M.G., Afonso A. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Page est:6.1 (2002)
171. Herbst Willy; Hunger Klaus; *Industrial Organic Pigments Production, Propierties, Aplicacions*. Weinheim. N.Y. pp.3, 11, 47, 496-514. (1993)
172. Robert M. Christie; *La química del color*. Acibia. España. pp. 27,28,160. (2003)
173. Zee Cheng & Cheng C.C., *J. Pharmaceutical Sci.*, **59**, 71630, (1970)
174. Adamson, R. H. *Cancer. Chemothera p. Rep.*, **58**, 293, (1974)
175. William O. Foye *Cancer Chemotherapeutic Agents*. ACS. Profesional Refer. Washingto, D.C 243-257 (1995)
176. Zee – Cheng, R.K. y Chang, C.C. *J. Med. Chem* 1978, 21, 291.
177. Chang, C.C., Zee – Cheng, R K., Narayaman, V.L., Ing., R.D., Paull, K.D., *Trends Pharmacol Sci*, **2**, 223 (1998)
178. *Drugs Future*, **8**, 229 (1983)
179. Chong, C.C.; Zbinben, Zee – China, R. K. Y. *J. Pharmaceutical Sci.*, **68**, 3933, (1979)
180. [http://fbio.uh.cu/metabol/pentosas\\_fosfato\\_gluconeogenesis.htm](http://fbio.uh.cu/metabol/pentosas_fosfato_gluconeogenesis.htm)
181. <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Libros/Quimica/pigmentos/archivos%20PDF/tecnología.pdf>
182. Schmitt P., Günther H., Hägele G., Stilke R. *Organic Magnetic Resonance*, **22**(7), 446-449. (1984)



c:\pel\_data\spectra\rocio pozas\16644.sp - USAI, Facultad de Química, UNAM

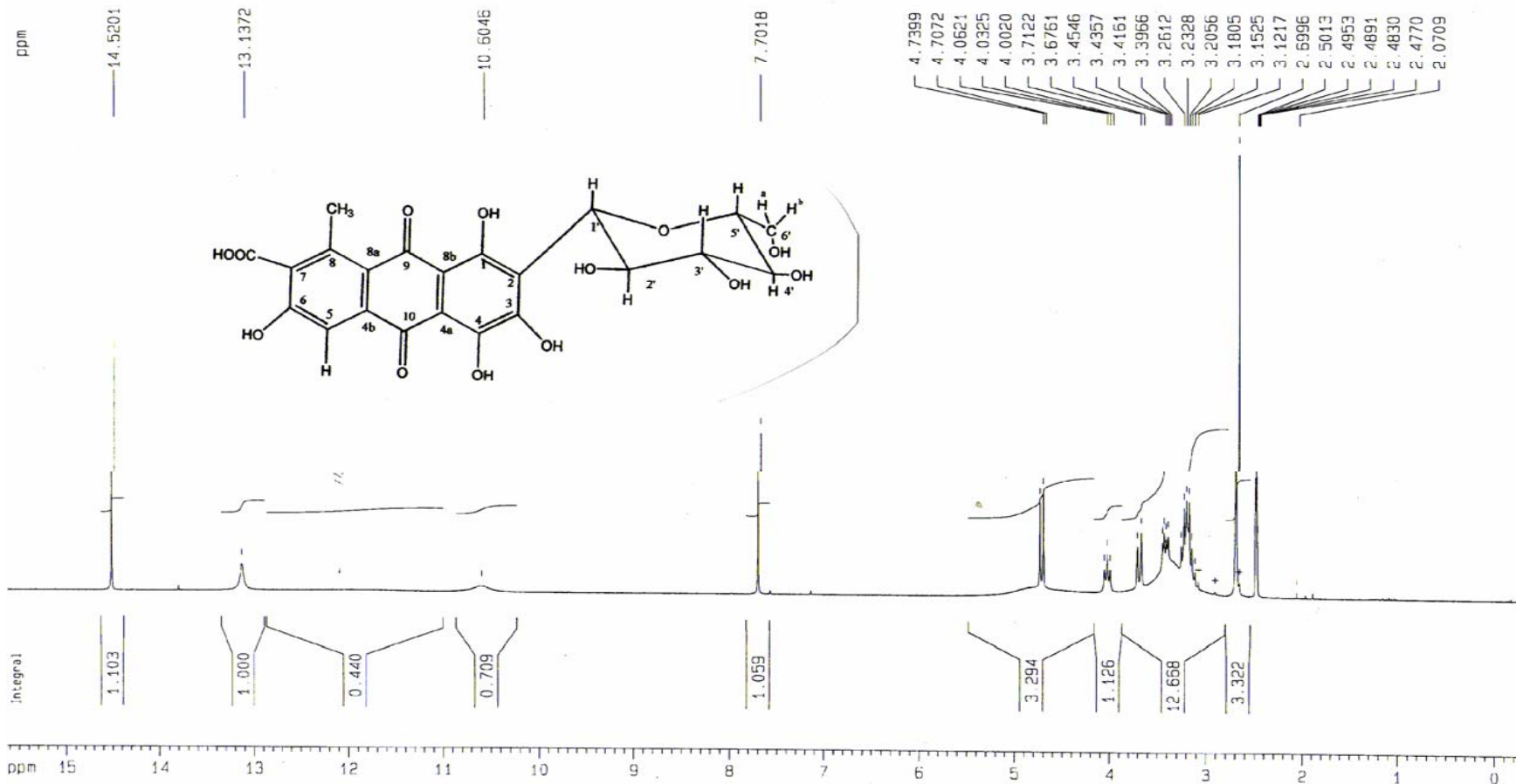
Dr. A.P/Miriam  
Clave: ACHeradeuterado  
DMSO

13C  
10-II-06



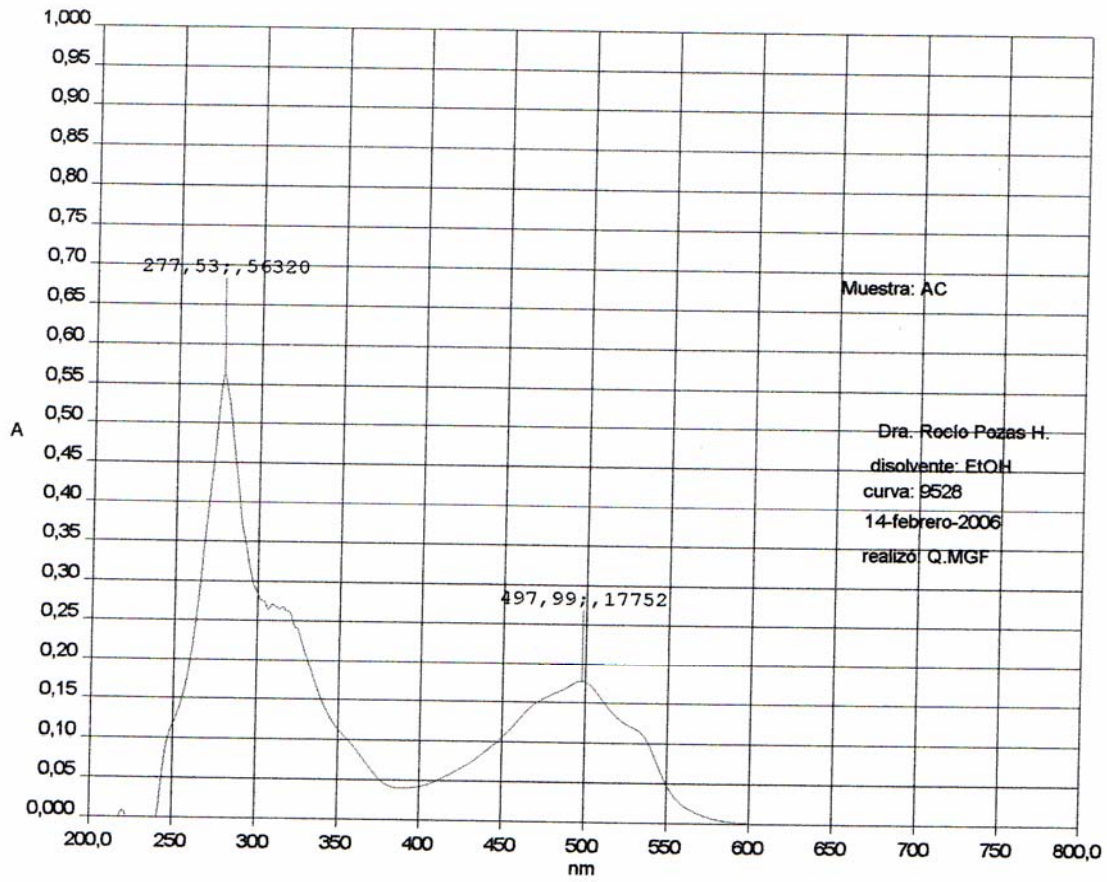
Dr. A.P/Miriam  
Clave: ACHeradeuterado  
DMSO

1H  
10-II-06

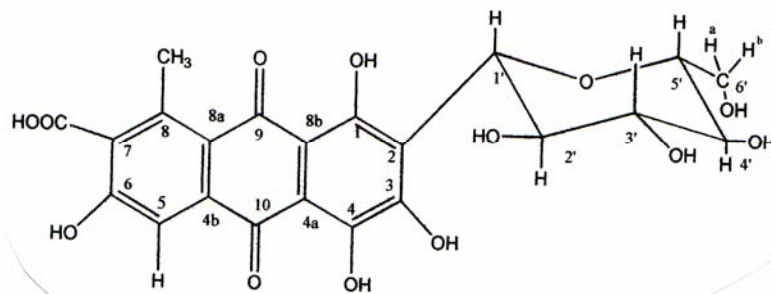


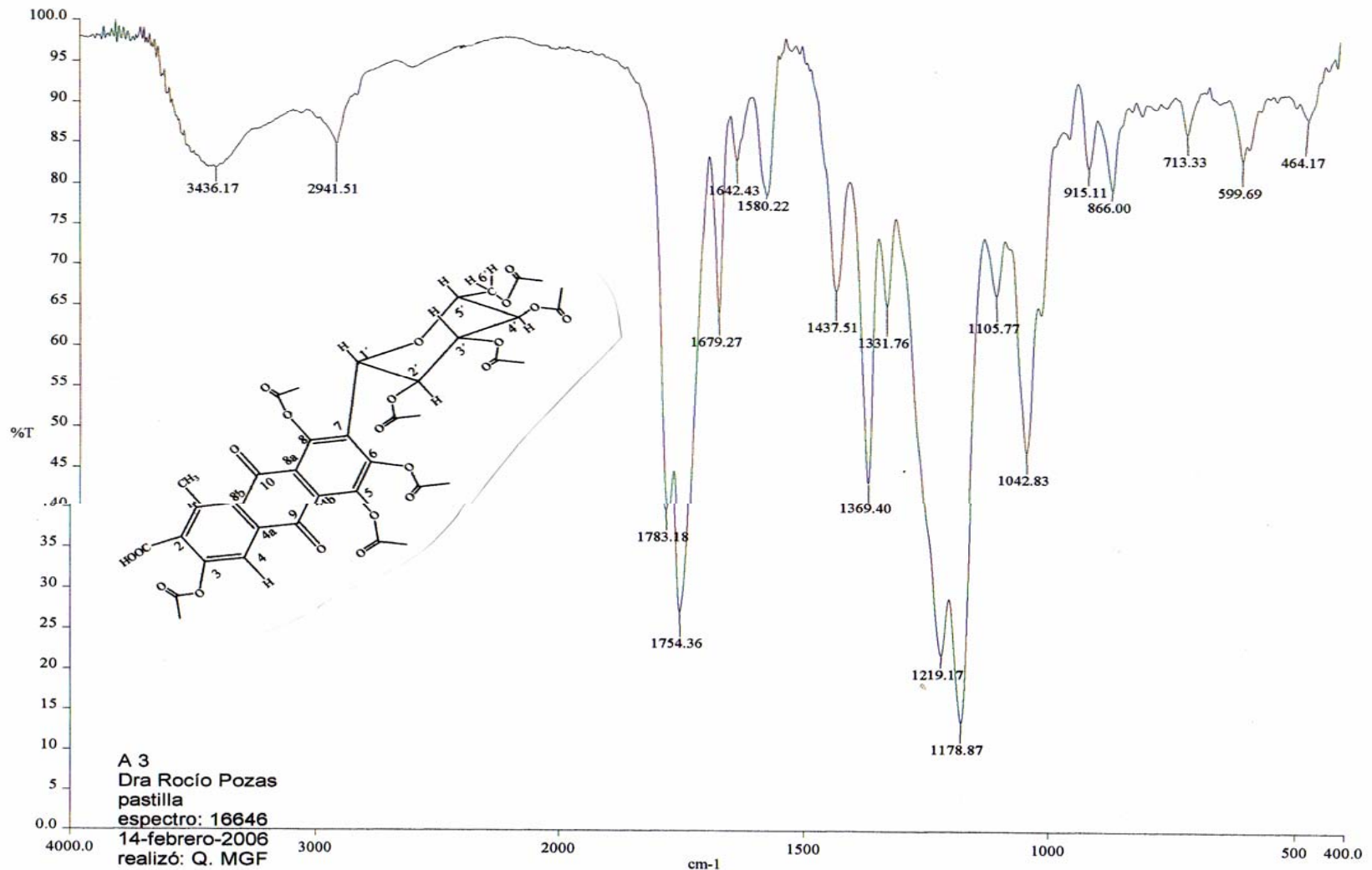
Date: 7/02/99

Time: 20:34:07



APP67\_14.SP - 7/02/99





c:\pel\_data\spectra\rocío pozas\16646.sp - USAI, Facultad de Química, UNAM

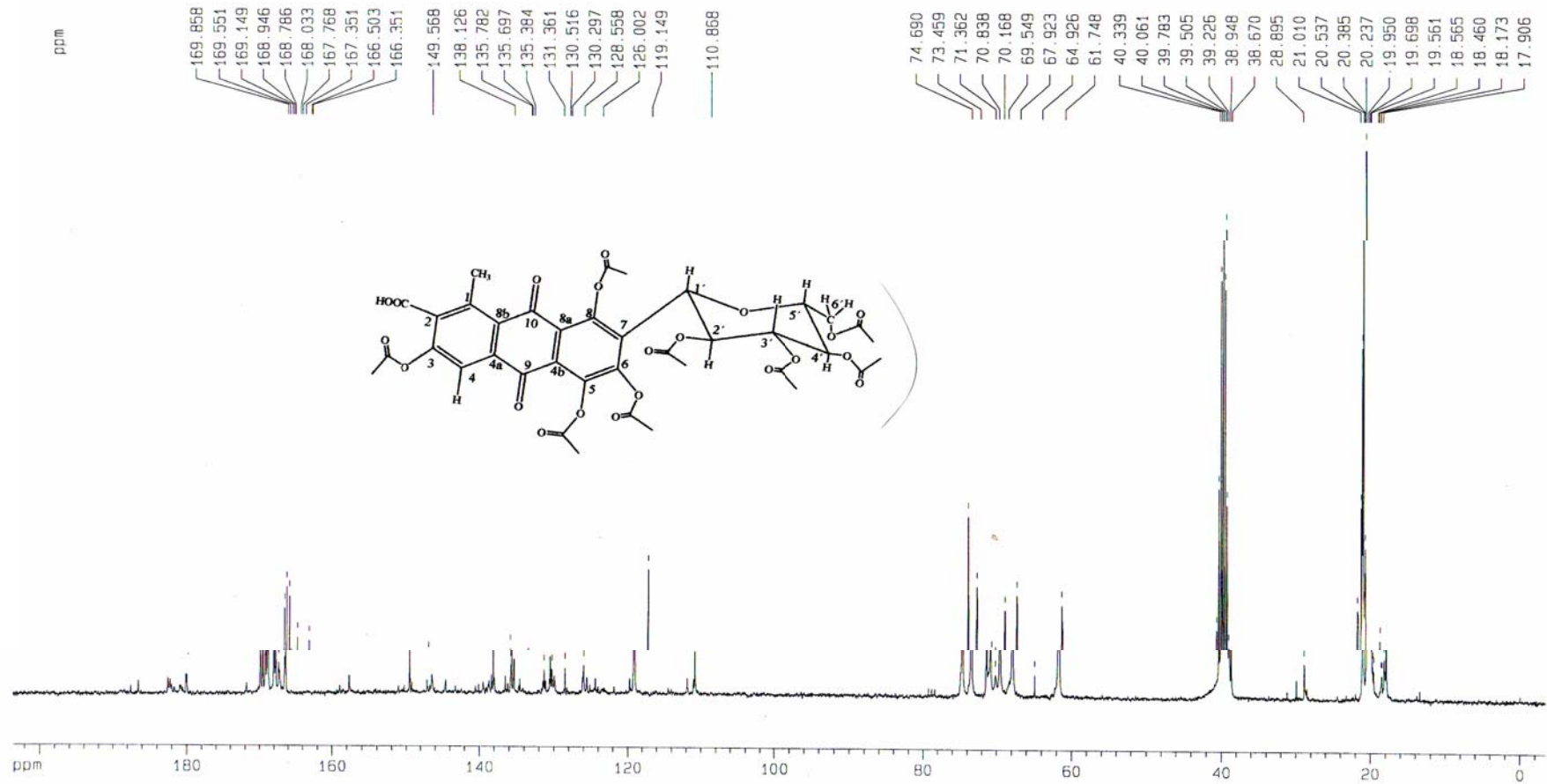
Dr. Agustin Palma/Miriam

Clave: Acetilado 2

DMSO

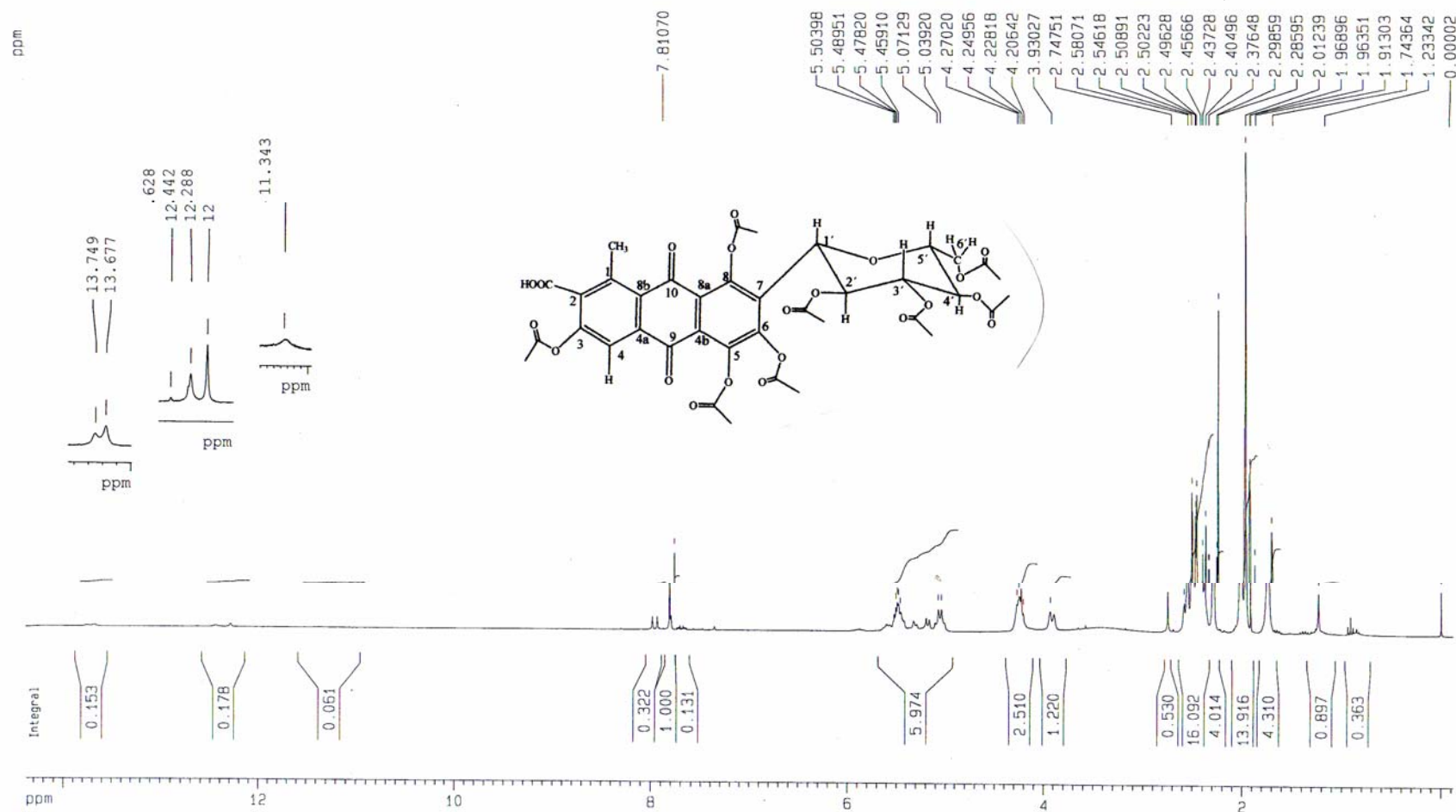
<sup>13</sup>C

13-II-06



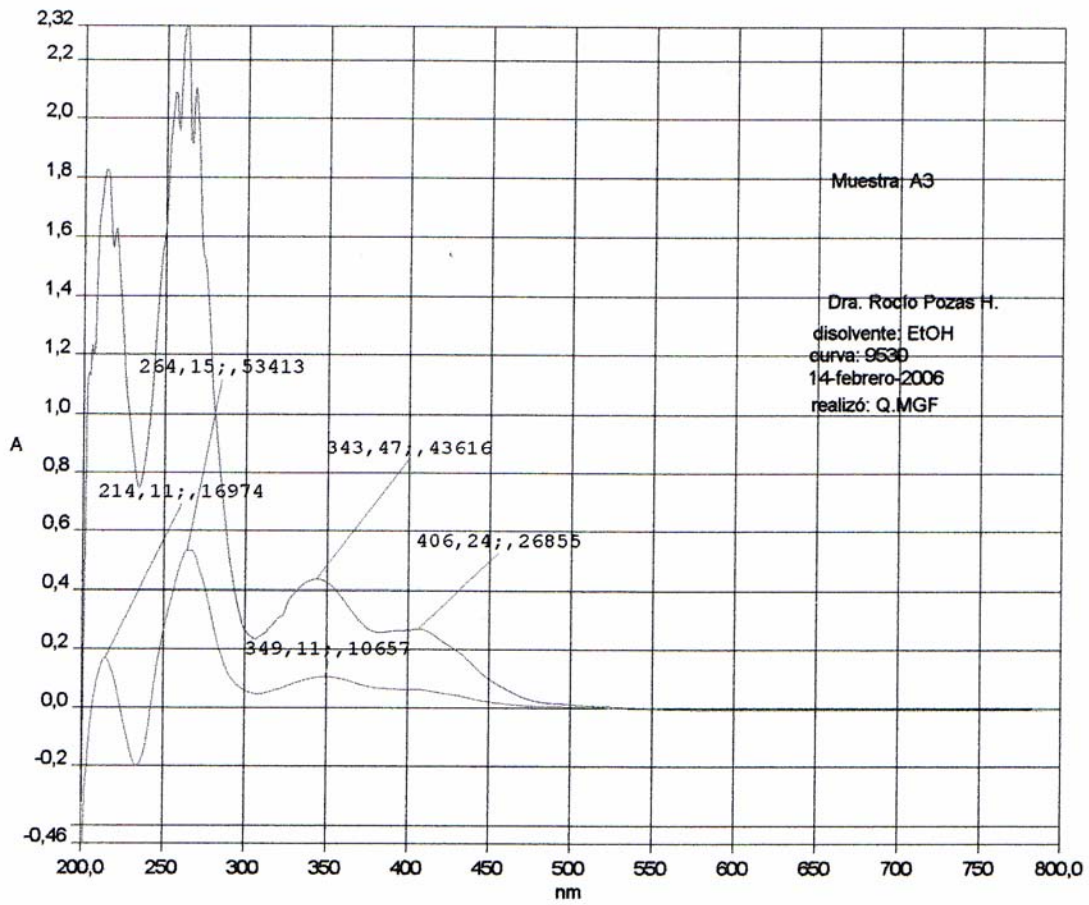


Dr. Agustin Palma/Miriam  
 Clave: Acetilado 2  
 DMSO  
 1H  
 13-II-06



Date: 7/02/99

Time: 20:07:28



— APP67\_18.SP - 7/02/99

- - - APP67\_21.SP - 7/02/99

