



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

Identificación de Psilocibina, por Cromatografía
en Capa Fina.

202

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO
BIOLOGO

P R E S E N T A

NORMA SUSANA LOBATO
CHABOLLA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

TESIS 1975
M.T. 924.192

FECHA _____
Lugar _____
N.º _____



QUÍMICA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE: PROF. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA
VOCAL: PROF. ETHELVINA MEDRANO DE JAIMES
SECRETARIO: PROF. ENRIQUE CALDERON GARCIA
1er. SUPLENTE: PROF. CESAR A. DOMINGUEZ CAMACHO
2o. SUPLENTE: PROF. MARIO MIRANDA CASTRO

SITIO DONDE SE DESARROLLA EL TEMA:

PROCURADURIA GENERAL DE LA REPUBLICA

SUSTENTANTE: NORMA SUSANA LOBATO CHABOLLA
ASESOR: Q.F.B. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA.

A MIS PADRES:

ALFONSO Y VIRGINIA, por todo lo que me
han dado.

CON CARÍÑO A MIS HERMANOS:

OSCAR
VICKY
LUIS

A MIS QUERIDOS SOBRINOS

OSCAR
LAURA

A MIS MAESTROS.

A MIS MEJORES AMIGOS.

Muchas gracias.

AGRADEZCO AL SEÑOR LICENCIADO, DON PEDRO
OJEDA PAULLADA, PROCURADOR GENERAL DE LA
REPUBLICA, EL QUE ME HUBIERA PERMITIDO EFEC-
TUAR ESTE TRABAJO EN LOS LABORATORIOS DE LA
INSTITUCION A SU MUY DIGNO CARGO.

AL Q.F.B. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA.

Gracias por la ayuda y colaboración
otorgada para el desarrollo de esta -
Tesis.

A LA SRITA. Q.F.B. ANA MA. MENDEZ CHAVEZ.

Por su gran asesoramiento.

AL CENTRO MEXICANO DE ESTUDIOS

EN FARMACODEPENDENCIA

I N D I C E.

INTRODUCCION.

CAPITULO I : GENERALIDADES

CAPITULO II : TECNICA APLICADA

CAPITULO III : PARTE EXPERIMENTAL

CAPITULO IV : RESULTADOS

CAPITULO V : CONCLUSIONES

CAPITULO VI : BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION

Sabemos que la narcomanía nace indudablemente de una propensión humana universal a tomar sustancias con objeto de disfrutar los efectos físicos y fisiológicos que producen. Las preparaciones que se emplean pueden variar desde las inocuas, como té y café, a drogas con efectos euforizantes, que producen síndromes graves y bastante específicos de incapacidad.

Los venenos euforísticos o estupefacientes ocasionan en el hombre fenómenos como: euforia, hábito, estado de necesidad y estado de abstinencia mucho muy peligrosos todos.

El motivo de preocupación particular en los últimos años ha sido el problema de narcomanía juvenil, y mucho se ha escrito acerca del "incitador", que acecha cerca de las escuelas elementales y seduce a los niños con drogas como parte de sus propósitos a largo plazo de crear nuevos narcómanos.

Es por eso que el control de narcóticos que se realiza en la Procuraduría General de la República, en la cuál realice mi tesis, tiene por objeto limitar las fuentes de droga, y la investigación futura en los campos químico y bioquímico promete mucho con respecto a los conocimientos sobre bases físicas de la narcomanía.

Entre uno de los tantos productos que producen narcomanía se encuentra un hongo pequeño que produce manifestaciones psicotrópicas cuyo nombre es Agaricaceae (Psilocyбина mexicana), y que ha sido usado durante mucho tiempo por los indios del sur de México en ceremonias mágico-religiosas. El uso de este hongo en nuestro país es bastante elevado ya que se tiene un fácil acceso a él y es mucho muy favorecido su comercio. El presente estudio versa sobre la identificación del principio activo contenido por dicho hongo por el método de Cromatografía

GENERALIDADES.

HISTORIA ANTIGUA.

"Ay unos honguillos en esta tierra que se llama,-- teonanácatl, ... los que los comen veen visiones". Así comienza una de las primeras descripciones del hongo *Psilocybe mexicana* cuya identificación científica sólo se ha logrado muy recientemente.

El teonanácatl, quiere decir hongo santo, entre los aztecas lo consumían durante ciertos ritos de su culto, se -- comprende que el hongo misterioso debía aparecer a los ojos de los celosos misioneros españoles como una cosa diabólica de -- los paganos. Tal opinión puede haber constituido uno de los -- motivos principales del curioso fenómeno ocurrido después del primer descubrimiento de los hongos legendarios, esto es su -- "relegamiento" a la esfera del tabú con lo que desaparecieron, por lo menos parcialmente, en la sombra del olvido.

HISTORIA MODERNA. CLASIFICACION BOTANICA.

El nombre genético del hongo en nahuatl es Teonanácatl (hongo sagrado). Las interpretaciones bótanicas de dicha palabra fueron basadas originalmente en los conceptos de Schultes, los cuales la seleccionaban a una sola especie de *Penaeolus* comprobándose después que este término no significa necesariamente una sola especie. Fué el mismo Schultes quien describió los primeros especímenes botánicos, en 1941 fueron estudiados con más detenimiento por Singer.

Posteriormente Singer y Heim, estudiando una muestra llegaron a la conclusión que se trataba de *Ps. mexicana*, y -- otra muestra fué determinada por Earle y Singer llegando a la conclusión que era *Ps. caerulescens*.

Hasta aquí estaban los conocimientos micológicos del Teonanácatl, cuando en 1952 el Dr. Sam I. Stein se interesó en la actividad psíquica de Psilocibina y Panaeolus y posteriormente Santensson fué el primer autor en publicar datos de análisis químicos y pruebas en animales.

G.R. Wasson, emprendió en 1953 una expedición a la Sierra mazateca, situada en el Edo. de Oaxaca, así se convirtió en uno de los primeros peritos en etnomicología, Wasson -- asistió a una ceremonia nocturna, y en 1955 tuvo ocasión de -- participar de nuevo en una ceremonia, donde tomó también los -- hongos santos.

Después de esto Wasson se puso en contacto con el -- micólogo francés R. Heim, el que, en 1956, lo acompañó en otra expedición y participó también en una ceremonia de hongos Heim había logrado ya anteriormente cultivar un hongo en su célebre laboratorio de criptogamia del Museo de Historia Natural de -- París y comprobar por autoensayo su eficacia psicotrópica. -- Por su colaboración subsiguiente con los laboratorios científicos de la casa Sandoz, muchos de estos hongos pudieron definirse respecto a su contenido en psilocibina, de forma que hoy día se dispone de una larga lista de variantes eficaces e ineficaces.

Fué hasta el año de 1957 cuando se aceptó como válido el nombre de *Ps. mexicana*, encontrándose muestras en la -- Sierra Costera y en el Popocatepetl.

Botánicamente pertenece a la familia Agaricaceae -- cuyos géneros son: *Conocybe*, *Copelandia*, *Psilocybe*, *Panaeolus*, *Strophera*.

Y dentro del género *Psilocybe* existen gran cantidad -- de especies como son: *Ps. mexicana*, *Ps. caerulescens*, *Ps. cu--*

bensis, *Ps. aztecorum*, *Ps. candidipes*, *Ps. yungensis*, *Ps. silvatica*, *Ps. cyanescens*, *Ps. muliercula*, *Ps. pediculosa*, etc., y se presentan datos de la descripción taxonómica sólo de algunas de ellas que son las más comunes.

Ps. mexicana: Posee esporas comprimidas de tamaño mediano (7 a 11 μ long), velo delgado poco desarrollado y no deja huellas de su presencia en los carpóforos maduros. El pileo es agudo u obtuso en los bordes, menos en la papila cónica apical, con un margen derecho o levemente curvo cuando son jóvenes; la membrana es pobremente desarrollada y el estípite delgado. Su habitat es característico en pasturas, campos, praderas o en la vegetación o plantaciones tropicales. Sus esporas son comprimidas pero no son característicamente pequeñas como en otras especies. Los mazatecos de Huatle los llaman "angelitos o pajaritos".

Ps. caerulescens: Sus esporas son comprimidas ligeramente cilíndricas pequeñas (menos de 9 μ long), el estípite es típicamente grueso (más de 3mm en el ápice), el velo regularmente desarrollado y su habitat es variable. Se les conoce con el nombre de "derrumbamiento de tierra".

Ps. cubensis: Tiene esporas medianas o grandes (7.7 μ o más de long) y generalmente algo comprimidas, de forma angular ovalada o angular elíptica, el velo es típicamente membranoso y sus restos persisten en el estípite en forma de anillos membranosos, el aspecto de los carpóforos es no micenoide, tiene su habitat en el estiercol y en la madera en estado de putrefacción. Se le considera un hongo sagrado y le llaman "San Isidro Labrador u Hongo guía".

Ps. yungensis: Sus esporas son muy pequeñas (menos de 7.7 μ long) y están fuertemente comprimidas, a simple viste

son típicamente angular-ovaladas, el velo en la parte baja del estípite sin formar anillos, el pileo es relativamente alto y agudamente papillado, el estípite es angosto o delgado. Tiene su habitat en restos forestales y en pedazos de madera putrefacta de las zonas tropicales, poseen además una pigmentación oscura.

Ps. aztecorum: La forma de las esporas de esta especie varia entre cilíndrica y ligeramente comprimidas, de tamaño típico (9 μ o más long), el velo varía desde bastante desarrollada a pobremente desarrollado pero nunca anular. Su habitat lo tiene en la tierra o también en la madera en putrefacción de los bosques, parques, o entre los arboles bastante separados. - Se les conoce como "niños del agua".

Ps. silvatica: Tiene esporas no comprimidas, de tamaño mediano (6 a 9 μ long) o grandes (10 a 13 μ). El velo es -- delgado y no deja restos de su presencia en los carpóforos adultos, el pileo es relativamente alto y agudo, no muy expandido, o sea, de diametro no muy grande, con un margen estrecho y cubierto por una película que va de delgada a gruesa en sus dimensiones, tiene su habitat en los bosques, en la madera y escombros pero en clima no tropical.

AISLAMIENTO Y ACLARACION DE LA ESTRUCTURA.

Heim fué una de las personas que describió e identifico por primera vez el grupo más numeroso, los del género Psilocybe cuya taxonomía se describió anteriormente. Heim pudo -- cultivar algunas de sus 11 especies en medios de abono compuesto y logró obtener cantidades bastante considerables de Psilocybe mexicana.

En el curso de la elaboración química de la Ps. mexi-

cana, se mostró pronto que el examen "in vivo" de las diversas fracciones no suministraba informes suficientes sobre su riqueza en sustancia activa. Por ello, se hicieron necesarios repetidos ensayos de control en humanos, en forma de autoensayos bajo vigilancia médica. De este modo, se logró circunscribir, en un tiempo relativamente breve, la actividad total de la droga a una fracción cuyas reacciones cromáticas permitían suponer que se trataba de un derivado indólico. En 1959 pudo obtenerse en forma pura, primeramente en estado amorfo y luego cristalino.-- El producto obtenido que recibió el nombre de psilocibina, correspondía a un 0.4% del material de partida y su eficacia equivalía, por todos los conceptos, a la de la droga total.

El análisis elemental de la psilocibina reveló el sorprendente hecho de que su molécula contenía un grupo fosfórico. Por otra parte, los métodos del análisis espectral no dejaron lugar a dudas acerca de su carácter indólico. Ahora bien, a pesar de conocerse numerosísimos derivados indólicos naturales, no se había descrito nunca, hasta la fecha, un compuesto fosforado de esta clase.

La psilocibina está constituida por la 4-oxidimetil - triptamina fosforilada. Por hidrólisis se desdobra en ácido fosfórico y psilocina, que se encuentra en los hongos en proporciones mínimas.

En efecto, la psilocibina representa no solamente el primer compuesto indólico fosforilado descubierto en la naturaleza, sino que tanto ella como la psilocina constituyen los primeros derivados naturales conocidos de la 4-oxitriptamina.

Existe una simple coincidencia entre si la psilocibina y la serotonina se interfieren mutuamente en el sistema nervioso

central, por la analogía de su estructura química.

La débil actividad, absolutamente considerada, de la psilocibina, en comparación con la de la dietilamida del ácido lisérgico, se manifiesta no solamente por su antagonismo respecto a la serotonina, la excitación central del simpático, etc., - sino también por su toxicidad total. De todos modos, la psilocibina no puede designarse, de ninguna manera como sustancia de -- alta toxicidad general y, por tanto, no cabe considerar su efecto psicotrópico como acción tóxica inespecífica.

EFFECTOS SOBRE EL ORGANISMO HUMANO.

La Clínica Psiquiátrica de la Universidad de Basilea realizó un primer análisis de la eficacia de la psilocibina en - varios colaboradores de los laboratorios científicos de la casa Sandoz. Los conocimientos así obtenidos respecto a la dosificación, eficacia entérica y parentérica, etc., permitieron poco - después, extender los ensayos a otras clínicas del país y del - extranjero. Valiéndonos, de las experiencias podemos esbozar -- el siguiente cuadro de efectos de la psilocibina.

La administración por la boca de pocos miligramos produce ya, en el espacio de 20-30 min. , modificaciones de la esfera somática y, sobre todo, del psiquismo. En cuanto a los efectos somáticos, muchas veces se manifiestan solamente en grado notorio a dosis más elevadas y consisten principalmente en reacciones neurovegetativas, como midriasis, aumento de los reflejos, - ligero ascenso o descenso de la presión sanguínea, variación de - la frecuencia del pulso, etc.

Entre los síntomas psíquicos se destaca, en primer -- lugar, la acción de pequeñas dosis de psilocibina sobre el estado de ánimo y el contacto con el ambiente, la que conduce frecuen-

entamente a una relajación y desprendimiento del medio acompañados de sensaciones agradables y, no raras veces, de cierta pesadez y fatiga físicas. Al aumentar las dosis, se producen pronto alteraciones de las nociones de tiempo y lugar y, principalmente, fenómenos psicosenoriales de hiperestesia visual, las que pueden intensificarse hasta el grado de ilusiones y alucinaciones. Sin embargo, por poseer propiedades alucinógenas menos intensas que la mezcalina y producir fenómenos de despersonalización inferiores a las determinadas por el LSD., se considera más apropiada para el empleo terapéutico. La utilización terapéutica de la psilocibina se podría efectuar, sobre todo, como coadyuvante de la psicoterapia, para cuyo objeto se atribuye gran importancia a la reactivación, en forma de vivencia, de contenidos de conciencia reprimidos. Sin embargo, pese a numerosas comunicaciones sobre el empleo eficaz de este medicamento en psiquiatría, los límites útiles de su aplicación se presentan algo restringidos, a causa de que, las más de las veces, ejerce una acción demasiado intensa y, sobre todo, excesivamente prolongada.

FARMACOLOGIA Y SINTESIS.

Psilocibina. Sinónimo 4 fosforil-oxi-N,N dimetil --
 triptamina. $C_{12}H_{17}N_2O_4P$ P.M. 284.3

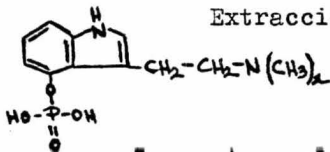
Propiedades físicas y químicas.

Cristales blancos

Punto de fusión: 185-195 °C.

Solubilidad: en ácido acético diluido.

Extracción: con metanol, de material seco.



Las aminas alcaloides son los derivados de la tripta-

mina esta es fisiologicamente inactiva; pero tenemos la N,N al-
kil triptamina que son los alucinogénos como DMT (dimetiltrip-
tamina) que se encuentra en la naturaleza en varias especies de -
plantas que crecen en Sudamerica, México. La DMT es un alucino-
géno de corta duración ya que su acción es de 40-50 min y se le
ha llamado como el "viaje del hombre de negocios" ya que su ---
cción no tiene tiempo limitado.

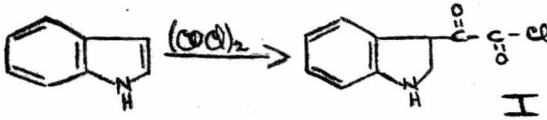
Sinteticamente se produce la DET (diethyltriptamina)
ya acción es similar a la DMT, pero los síntomas duran aproxi-
adamente 2 horas y media, se ha llegado a sintetizar hasta la
hexil triptamina, sin embargo su actividad fisiologica decrece
partir del dipropil triptamina y el dihexil se considera inac-
ivo.

La DMT se encuentra en ciertos hongos pequeños de es-
pecies como: Psilocybe mexicana y Conocybe cyanopus, y los miem-
ros activos de ambos géneros son de color pardusco e inaparen-
es, pero se caracterizan fácilmente por sus manchas azuladas,
specially cerca de la base del estípote, que se forman cuan-
o el tejido se lesione o envejece. Los estudios químicos re--
elaron que los principios activos en estos hongos son dos deri-
ados de la triptamina: la psilocibina y la psilocina. La psi-
ocibina se está estudiando clinicamente para determinar su uti-
idad en el tratamiento de transtornos psiquiátricos.

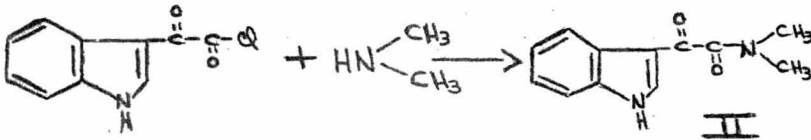
Los síntomas producidos por la psilocibina se desarro-
llan rápidamente y duran varias horas. Son comunes la ansiedad
y dificultad de concentración y comprensión. Se pueden experi-
mentar alucinaciones elementales y verdaderas. La recuperación
suele ser espontánea y total, después de 5-10 horas.

OBTENCION.

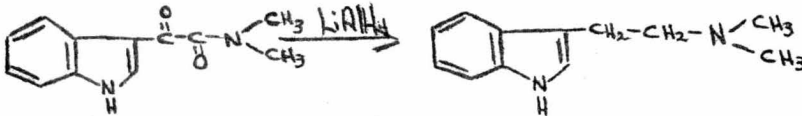
La DET y DET son sintetizadas por la reacción del -- indol con cloruro oxálico para producir el cloruro indolilgloxil (I)



Este intermediario reacciona entonces con dimetil -- amina o dietil amina para producir indolil gloxil dimetil amina (II)



El cuál es reducido con hidruro de litio y aluminio - hasta dimetil triptamina.



METABOLISMO.

La Psilocibina es rápidamente convertida en el cuerpo por desfosforilización a Psilocina la cuál parece ser un compuesto psicoactivo. Después de su distribución en el cuerpo la mayor cantidad aparece en hígado y riñón. Arriba del 11% se excreta por la orina, 20% como derivado del ácido glucurónico; - 3.5% es dimetilado y degradado a derivados del ácido indólico; 15-20% se encuentra en la bilis.

DOSIS.

Psilocibina 1-2 mg oral y 3-6mg subcutánea producen euforia después de 15-30min, y después de 3-5 horas síntomas - depresivos en algunos casos.

ASPECTOS LEGALES.

En EE.UU., la LSD y las triptaminas son controladas por el Control de Reformas de la Federación de Alimentos, Drogas o Medicamentos y Cosmetología (DACH), en el acta de 1938. Estas reformas fueron modificadas en 1966 con el fin de contener el creciente número de estimulantes depresores y alucinógenos, que en un principio inundaron el mercado de consumo.

Por ejemplo estos compuestos se mencionan en la regla número "1" en la cuál dice que no se acepta su uso medicinal en los Estados Unidos y su alto abuso potencial. De la serie de triptaminas sólo son controladas la dimetil triptamina y la dietil triptamina bajo la ley federal. Es por eso que aunque la Psilocibina puede ser utilizada para tratamiento psiquiátrico, no ha sido aceptada y permitido su uso, por lo que se considera una droga cuyo uso esta prohibido.

En el Código Sanitario de la Secretaría de Salubridad y Asistencia de los Estados Unidos Mexicanos, se encuentra un capítulo correspondiente a Estupefacientes, que dice:

Artículo 290.- La siembra, cultivo, cosecha, elaboración, preparación, acondicionamiento, adquisición, posesión, comercio, importación, exportación, transporte en cualquier forma, prescripción médica, suministro, empleo, usos, consumo y, en general, todo acto relacionado con el tráfico o suministro de estupefacientes o de cualquier producto que sea considerado como tal en los Estados Unidos Mexicanos, queda sujeto a:

- I.- Los tratados y convenios internacionales.
- II.- Las disposiciones de este Código y sus, reglamentos.
- III.- Las disposiciones que expida el Consejo de Servicios Generales.
- IV.- Lo que establezcan otras leyes y disposiciones de ca-

rácter general relacionadas con la materia.

V.- Las disposiciones técnicas y administrativas que dicte La S.S.A., y

VI.- Las disposiciones administrativas de las Secretarías de Hacienda y Crédito Público e Industria y Comercio en materia fiscal y de importaciones y exportaciones respectivamente.

Artículo 291.- Los actos a que se refiere el artículo anterior, sólo podrán realizarse con fines médicos y científicos, - para el control sanitario de los estupefacientes en materia de - adulteración, contaminación, alteración, se aplicarán los artículos 235, 236, 237 de este Código.

Artículo 292.- Para los efectos del artículo 290 se consideran como estupefacientes las sustancias vegetales, de las cuales se mencionarán a continuación algunas:

Acetil dihidrocodeína

Alfametadol (alfa 6-dimetilamina 4,4 difenil-3heptanol)

Anfetamina (alfa metilfenetilamina)

Betaprodina (beta-1,3 dimetil-4fenil-4 propionoxipiperidina)

Cannabis (cañamo indico) y su resina.

Cocaína (éster metílico de benzoilegonina)

Codeína y sus sales.

Dietilamida del ácido lisérgico LSD.

Etilmorfina.

Heroína.(diacetilmorfina).

Hongos alucinantes de cualquier variedad botánica y en especial las especies Psilocybe mexicana, Stropharia cubensis y - Conocybe y sus derivados activos.

Morfina.

Opio.

Como se puede observar en la lista anterior se encuentra Psilocybe mexicana, utilizado en este estudio.

TECNICA APLICADA.

La técnica aplicada para la determinación del principio activo del hongo de la familia Agaricaceae, género *Psilocybe mexicana*, fué tomada del libro "Isolation and Identification of Drugs", de Clarke E.G.C., a la cuál se le hizo una pequeña modificación.

La técnica original dice: "la extracción de la *Psilocibina* que se encuentra en el hongo *Agaricaceae* se hace extrayendo con solventes orgánicos por ejemplo: soluciones acuosas amoniacales, metanol, eter, etc., la extracción se hace de material seco.

De la técnica anterior se hizo la extracción con metanol y con eter, pero el material que se utilizó no estaba seco por completo. En ambas extracciones se maceraron los hongos y después se filtró, además se efectuó una prueba colorimétrica para determinar en cual de los dos extractos había mayor presencia de la *Psilocibina*.

Se vió que en la extracción de metanol había mayor presencia de *Psilocibina*, sin que el material estuviera seco por completo. El extracto se dejó a temperatura ambiente aproximadamente por 3 horas con el fin de que se evaporara un poco más el solvente.

El método utilizado para el desarrollo de esta técnica fue el de *Cromatografía en Capa Fina*.

En los últimos 25 años se describieron muchísimos sistemas cromatográficos diferentes, en términos generales se pueden dividir en variedades cuantitativas como *cromatografía en gases y líquidos* y cualitativas o semicuantitativas como son la *cromatografía en papel* y en *capa fina*.

La cromatografía en capa fina fué creada un poco -- antes de 1960 por Egon Stahl en Alemania. En la cromatogra -- fía en capa.fina la fase estacionaria es una capa de gel de sílice o de otro absorbente depositada en forma homogénea --- sobre una placa de vidrio plana. Los cromatogramas se reve -- lan por migración (ascendente o descendente) de una fase líqui -- da a través de la fase estacionaria.

El método cromatográfico resuelve con notable éxi -- to el problema de la separación e identificación de los com -- ponentes de un grupo de sustancias químicamente parecidas, o a la demostración de sustancias de muy baja concentración en -- los líquidos biológicos. Su gran sencillez permite adaptarlo a los problemas de la investigación clínica.

Como se mencionó antes en la cromatografía en capa -- fina se utiliza un soporte inerte, generalmente gel de sílice , cuyas propiedades de adsorción pueden regularse hasta cierto -- punto, y se acelera la separación extendiendo dicho soporte -- en una capa fina (de 100-500 mm de espesor), sobre una placa -- de vidrio o una hoja de plástico. En esta capa delgada, los -- solventes se desplazan rápida y homogéneamente, la dispersión de la mancha puede regularse, y es posible aplicar reactivos -- de identificación a base de ácidos y bases fuertes. Incorporan -- do sulfato de calcio al gel de sílice la capa delgada se adhie -- re firmemente a la base del vidrio o de plástico. En algunos -- sistemas, se incluye un indicador fluorescente en la capa del -- gada, lo que permite localizar muy fácilmente las sustancias -- después de su separación, pues aparecen como manchas oscuras cuando se ilumina la placa con L.U.V., de pequeña longitud de -- onda. Este método, utilizado para conocer a que grupo pertene -- cen los barbitúricos y alcaloides, tiene la ventaja adicional de que las sustancias no son modificadas, y pueden ser recobra --

das por elusión del cromatograma, con vistas a realizar más pruebas.

Existen muchas razones por las que el método de la cromatografía en capa fina, siempre que sea posible, se ha de preferir a la cromatografía en papel, columna o en fase gaseosa. Los aparatos que se utilizan son mas simples que para los otros métodos, el tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor que en papel y columna, la separación es generalmente mejor. Es posible aplicar a las placas una gran variedad de reactivos de revelado.

El método es simple y los resultados son reproducibles lo que hace que sea adecuado para muchos propósitos analíticos sin que haya que tomar precauciones muy particulares.

A continuación se mencionan los materiales, desarrollo de placas y revelado de una cromatografía en capa fina.

MATERIALES.

1.- Fase estacionaria.- en la actualidad se utilizan muchas; las más comunes son: gel de sílice, gel de diatomeas, alúmina, celulosa y Sephadex.

El gel de sílice que es el que más se utiliza lleva incorporado un agente aglomerante, yeso (sulfato cálcico semihidratado), también se usa el almidón de arroz. Se han incorporado también dos indicadores de LUV, por separado o juntos, en diversos tipos de gel de sílice. La fluoresceína sódica, fluoresce cuando se la expone a la LUV de 254 m μ , de manera que las manchas de compuestos que absorben a esta frecuencia contrastan fuertemente sobre el fondo fluorescente verde-amarillo. Las sales de sodio de los ácidos hidroxipireno-sulfónicos fluorescen a 366m μ y proporcionan un fondo de contraste

para la serie, más limitada, de los compuestos que absorben a esta frecuencia.

2.- Soporte.- la fase estacionaria se extiende en capa fina sobre un soporte sólido, en general una placa de vidrio o plástico.

3.- Tanque de revelado.- los frascos han de ser de vidrio con tapas herméticas.

METODO.

1.- Preparación de las placas.- el absorbente se mezcla con agua hasta formar una pasta. Las proporciones relativas de pasta y agua condicionan el espesor de la capa y la rapidez del secado. Suele trabajarse con 30 g de gel de sílice y 5 ml de agua, para preparar 5 placas de 0.25 mm de espesor, las placas se secan al aire, y se activan a una temperatura de 120 C durante una hora para eliminar la mayor parte de agua.

2.- Colocación de las muestras.- el material que se quiere someter a cromatografía suele ponerse a 1 cm del borde inferior de la placa. Existen moldes para marcar el cromatograma antes de colocar los materiales en él, a manera de situarlos exactamente a la misma distancia del borde inferior. La maniobra debe realizarse con cuidado, para no perforar la capa absorbente.

3.- Revelado.- el revelado puede hacerse nebulizando ácido sulfúrico al 50% y calentando a 120°C de 10-15 min, o con IUV.

DESARROLLO DE LAS PLACAS.

El desarrollo de los cromatogramas en capa fina se hace normalmente por el método ascendente, esto es, al permitir que un eluyente (mezcla) ascienda en una placa casi en posición vertical, por la acción de la capilaridad.

Generalmente el eluyente se introduce en la cámara por lo menos, una hora antes del desarrollo, para permitir la saturación de la atmósfera. El tiempo de desarrollo, por lo general, no llega a los 30min. Las placas pueden desarrollarse durante un tiempo prefijado, transcurrido el cuál debe marcarse la posición del eluyente, o pueden desarrollarse hasta que alcancen una línea dibujada a una distancia fija desde el origen. Se usa una distancia fija para conseguir la estandarización de los valores Rf.

La elección del sistema eluyente es mejor hacerla ensayando primero los efectos de un disolvente muy polar, como el metanol, y de un disolvente muy poco polar como el ciclohexano. La combinación de dos disolventes mejora frecuentemente la separación que consigue uno solo. Se recomienda que las mezclas sean lo más simples posibles.

LAMPARAS L.U.V.

Muchos compuestos pueden ser localizados ya que absorben la LUV alrededor de las 254 nm y otros a 366 nm.

Rf.

El valor Rf es simplemente una manera de expresar la posición de un compuesto sobre una placa como fracción decimal, ya que la distancia recorrida por el compuesto se mide normalmente desde el centro de la mancha.

$$Rf = \frac{\text{dist. recorrida desde el origen por el comp.}}{\text{dist. recorrida desde el origen por frente eluy.}}$$

PARTE EXPERIMENTAL.

MATERIAL UTILIZADO.

- 1.- Vasos de precipitado de 50 ml.
- 2.- Matraz Erlenmeyer de 50 ml.
- 3.- Embudo de vidrio de 8 cm de diámetro.
- 4.- Tubos de ensaye de 16 por 150 mm.
- 5.- Placas de plástico de gel de sílice F-254.
- 6.- Cámaras para Cromatografía capa fina.
- 7.- Lámpara LUV 254 nm.
- 8.- Papel filtro # 1.
- 9.- Capilares.

SOLVENTES.

- 1.- Eter.
- 2.- Metanol QP.
- 3.- Cloroformo.
- 4.- Amoníaco.
- 5.- Acetona.
- 6.- Hexano.
- 7.- Acetato de etilo.
- 8.- Ciclohexano.
- 9.- Ac. ecético.

MATERIA PRIMA.

- 1.- Hongo familia Agaricaceae, género *Psilocybe mexicana*.

DESARROLLO DEL EXPERIMENTO.

a) La extracción se hizo colocando el hongo (1.50g) en un vaso de precipitado y agregando metanol (10ml).

b) Se pulverizó lo más finamente y se pasó a un matraz Erlenmeyer (50ml), ahí se le agregaron 5ml más de metanol, se agita durante 20 min para que la superficie de contacto entre

muestra y disolvente sea mayor y así se pueda extraer una mayor cantidad.

c) Se filtra a través del papel filtro del número 1.

d) La muestra se deja evaporar a temperatura ambiente - por 3 horas.

e) Se guarda la muestra en un frasco con tapa en el refrigerador.

f) Las placas de gel de sílice usadas medían 7.5cm de largo por 2.5 cm de ancho.

g) La cantidad de muestra que se colocaba en las placas era de 5λ .

h) Las muestras eran colocadas a una distancia de 0.5 cm de la orilla de la placa.

i) Para determinar que tipo de eluyente era el adecuado para obtener una separación de la mancha en la placa, se efectuaron varias pruebas con mezclas de solventes y la combinación Cloroformo-Metanol (1.1 - 0.9 ml), era con la que se obtenía - la separación deseada.

j) Para el tiempo de saturación de la cámara se hicieron varias pruebas, y como promedio se sacó un tiempo de 30 min.

k) El tiempo de corrimiento fué de 20 min. promedio.

l) Las placas se dejaban secar de 3 a 5 min.

m) El revelado se efectuaba con una lámpara de LUV.

n) Se marcaba el sitio en donde llegaba el eluyente, -- al igual que el sitio en donde aparecía la mancha.

ñ) Se obtenía el valor del Rf.

RESULTADOS.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Mezcla de solventes (eluyente)	t sat. cámara	t. corri- miento.	Resultados.
Ciclohexano 1.5 ml Ac. acetico 0.1	30 y 45 min.	20 y 30 min.	Neg.
Acetato etilo 1.5 ml Ac. acetico 0.5 "	30 y 45 min.	20 y 30 min.	Neg.
Butanol 1.9 ml Etilico 0.1 "	30 y 45 min.	20 y 30 min.	Neg.
Benceno 1.5 ml Butanol 0.5 "	30 y 45 min.	20 y 30 min.	Neg.
Heptano 1.5 ml Acetona 0.5 "	30 y 45 min.	20 y 30 min.	Neg.
Hexano 1.5 ml Butanol 0.5 "	30 y 45 min.	20 y 30 min.	Ligera separación
Metanol 1.5 ml Cloroformo 0.5 "	30 y 45 min.	20 y 30 min.	Ligera separación.

Después de efectuadas las pruebas con diferentes sol-
ventes al igual que variando los tiempos de saturación y de co-
rrimiento, se eligieron las mezclas con las cuales se había --
observado una ligera separación y se procedió a hacer más prue-
bas, los resultados fueron los siguientes.

Hexano 1.5 ml Butanol 0.5 "	45 min y 1 hora.	30min.	Ligera
Metanol 1.5 ml Cloroformo 0.5 "	45 min y 1 hora.	30 min.	Mayor se- paración.

Las pruebas efectuadas con la primer mezcla no dieron
los resultados deseados, más con la segunda mezcla se obtuvieron
resultados positivos, dicha mezcla se utilizara como eluyente.

A continuación se procedió a efectuar más pruebas para encontrar la proporción adecuada para una mejor separación.

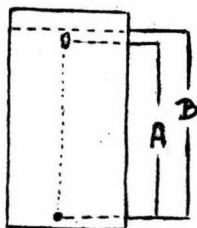
Mezcla solventes (eluyente)		t sat. cámara	t corrimiento.	Resultados.
Cloroformo	1.5 ml	30 min	20 min	Neg. (no total)
Metanol	0.5 "			
Cloroformo	1 ml	30 min	20 min	Neg. (no total)
Metanol	1 "			
Cloroformo	0.8 ml	30 min	20 min	Neg. (no total)
Metanol	1.2 "			
Cloroformo	0.9 ml	30 min	20 min	Separación (casi total)
Metanol	1.1 "			
Cloroformo	1.1 ml	30 min	20 min	Separación (definida)
Metanol	0.9 "			

Habiéndose encontrado la cantidad adecuada en la mezcla de solventes elegida, se efectuaron varias pruebas variando el tiempo de saturación de la cámara al igual que el tiempo de corrimiento de la muestra, los resultados que se observaron después de sacar su Rf fueron los siguientes:

Eluyente	t sat. cámara	t corrimiento	Rf
Cloroformo (1.1)	5 min	5 min	0.91
	10 min	10 min	0.90
	15 min	15 min	0.90
Metanol (0.9)	30 min	20 min	0.90
	45 min	30 min	0.91
	1 hora	30 min	0.90

En las pruebas que se efectuaron se alternaron los tiempos de saturación así como los de corrimiento de la muestra, sacando como tiempo promedio para la saturación de la --

cámara 30 min, y para el tiempo de corrimiento 20 min, por lo que con estos tiempos y la mezcla de solventes se hicieron -- varias pruebas para comprobar la constancia de su Rf, y así -- determinar la Psilocibina.



$$Rf = \frac{A}{B}$$

A.- FRENTE DEL PROBLEMA

B.- FRENTE DEL ELUYENTE

A continuación se mencionan el número de pruebas efectuadas, distancia recorrida por la muestra y distancia recorrida por el eluyente y su Rf, como fueron varias las pruebas solamente se mencionara un resultado ya que en todas el Rf que se obtuvo fué constante.

No. de pruebas.	Dist. del compuesto	Dist. eluyente	Rf
5	5.8	6.4	0.9
8	5.7	6.25	0.91
6	5.7	6.3	0.90
6	5.8	6.4	0.90
5	5.7	6.3	0.90
8	5.9	6.5	0.90
4	5.7	6.25	0.91
5	5.4	6	0.90
6	5.1	5.6	0.91
6	5.7	6.3	0.90
5	5.8	6.4	0.90
6	5.6	6.2	0.90

Como se puede observar el Rf en las pruebas efectuadas fué constante, con lo cuál determinamos que en Cromatografía en capa fina, utilizando como eluyente la mezcla de Cloroformo 1.1, metanol 0.9, obtendremos una separación de la mancha -- correspondiente a Psilocibina con un Rf de 0.90.

CONCLUSIONES.

1.- El método utilizado como fué Cromatografía en - capa fina, hace posible la elección de muchos medios y así podemos hacer separaciones por reparto, filtración, sobre gel, - adsorción e intercambio iónico.

2.- El desarrollo en la placa es mucho más rápido- que en papel debido al tamaño de las partículas tan finas que posee la placa de sílice gel, en comparación del tamaño de partículas del papel.

3.- Se obtienen mejores resoluciones y manchas más compactas.

4.- Las determinaciones son rápidas y versátiles.

5.- Su costo es económico.

6.- Permite obtener separaciones en un período de - 20 a 40 minutos.

7.- Se ve que la mezcla de solventes en las cantidades adecuadas, da un Rf constante sin importar la variación en el tiempo de saturación de la cámara y el tiempo de corrimiento.

8.- Se observó que con una simple extracción con -- metanol podemos obtener Psilocibina, del género de hongos correspondiente a la familia Agaricaceae.

9.- También se vió que para su obtención no se requieren muestras enteras y pueden estar en estado de descomposición.

10.- Además se observó que el material utilizado como venía impregnado de miel y lodo fué lavado con agua y aún así se logró una buena extracción de Psilocibina.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- ABBOTT David y R.S. Andrews. An Introduction to Chromatography. Longmans. 1970.
- 2.- AGUILERA, Edmundo. Investigación Química legal de Hongos alucinógenos. 1969 (tesis).
- 3.- BECHMAN Harry. Drugs their nature, action and use. -- Sanders Company. 1958.
- 4.- BROWNING, D.R. Cromatografía. Mac-Graw-Hill. 1971.
- 5.- BUZZO Alfredo. Toxicología. Libreros editores. 1952.
- 6.- CERLETTI, Dr. A. Teonanácatl y Psilocibina. Lab. -- Farmacologicos, Sandog, S.A., Basilea (Suiza).
- 7.- CHAVEZ, Arturo. Investigación Química de un Hongo -- alucinante. 1961 (tesis).
- 8.- CLARKE, E.G.C. Isolation and Identification of Drugs.
- 9.- DELAY, J. Pichot P. The Somatic effects of Psilocybin. Am. med-psychol. Paris 17, 1959.
- 10.- FUENTE, Dr. Ramón. Drogas estimulantes y alucinógenas. Mesa de discusión coordinada. Servicio de Psiquiatría. México.
- 11.- GUZMAN, G. Nueva especie de Psilocybe de la Sección - Caerulescens de los bosques de Coníferas de México. --- An. Esc. Nac. Cienc. biol, Méx. 17: 9-16.
- 12.- HILLEBOE, Herman E. Medicina preventiva. Editorial Interamericana. 1966.
- 13.- HOFMANN, A. Identification of Psilocin. Experientia- 15, 1959.

- 14.- LYNCH, J y Stanley Raphael. Métodos de Laboratorio. Interamericana. 1972.
- 15.- NIETO, D. Psicosis experimentales con Psilocibina. Neurología-Neurocirugía-Psiquiatría. México. 3-62.