

2ej 30



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

**"DETERMINACION DE LOS PRINCIPALES CANNABINOIDES EN
DIFERENTES ETAPAS DE DESARROLLO DE LA PLANTA DE
CANNABIS SATIVA L."**

T E S I S

Que para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

CARLOS SALVADOR CARRIEDO RICO

México, D. F.

1981



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.

I N D I C E

	Página
I.- OBJETIVOS Y RESUMEN	1
II.- GENERALIDADES	3
III.- MATERIAL Y REACTIVOS	28
IV.- METODO	29
V.- RESULTADOS	36
VI.- DISCUSION Y CONCLUSIONES	60
VII.- BIBLIOGRAFIA	62

1. OBJETIVOS Y RESUMEN

Este trabajo tiene como principal objetivo, el análisis químico legal de la resina extraída de las hojas de seis lotes de plantas de Cannabis sativa-L., a diferentes tiempos de crecimiento, se controlaron las variables luz, temperatura, humedad y suelo, sujetando los lotes a las mismas condiciones experimentales de cultivo. Las semillas fueron proporcionadas por la Procuraduría General de la República a través del laboratorio de Química Legal; despepitando para este fin una sola planta, la cual provenía del Estado de México, según datos de colecta.

Cuando las plantas alcanzaron el tiempo fijado para su desarrollo, se les determinó el contenido de los tres principales cannabinoides; Tetrahidrocannabinol (THC), Cannabinol (CBN) y Cannabidiol (CBD).

La importancia de este trabajo, es la de haber obtenido resultados cuantitativos que pueden ser empleados como base para estudios posteriores, ya que se han realizado infinidad de investigaciones acerca de la actividad psicotóxica de la planta, pero en la mayoría de ellas se desconoce la concentración y la relación que existe de dichos compuestos, sobre todo, cuando empieza un franco período de decaimiento de la planta, que se percibe como un cambio gradual de la coloración de las hojas.

Con este estudio podemos saber como varía el principio activo de la resina, el THC y su relación con el CBN y CBD, así como el grado de sensibili-

dad que presentan las reacciones colorimétricas para identificación de cannabinoides, en plantas maduras y en plantas decadentes.

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Química de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal.

II. GENERALIDADES

La Cannabis sativa L., mariguana o cañamo Indico, - es una de las mas antiguas plantas cultivadas por el hombre, desde el Asia Central donde nació y fue cultivada hace cinco mil años, se ha extendido por todas las zonas templadas y tropicales del globo. (5).

La mariguana se ha utilizado por la fibra de su tallo, el aceite de la semilla y las sustancias intoxicantes de sus inflorescencias.

Los chinos la cultivaron por la fibra de su tallo, utilizando además todas las partes de la planta para la medicina. Las flores para curas las heridas-abiertas, las semillas para neutralizar inflamaciones e infecciones de la piel, al igual que hacfantónicos laxantes, diuréticos y desparasitadores para bebés y animales. (9).

En los escritos del emperador chino Shen Nung, -- 2700 A. de C., la mariguana es llamada "Gufa celestial" y "Consoladora del pensar". (35)

La primera mención acerca de la mariguana en un - tratado de botánica se remonta al siglo XV A. de C. en el RHY-YA que es un tratado chino. Posteriormente la emplearon en el año 200 A. de C. como anestésico con el nombre de "Mafosen". (29).

Las propiedades embriagantes de ciertas preparaciones de la mariguana se conocen en India desde hace mas de 2000 años. En los libros sagrados, los autores de los poemas o vedas atribuyen a la mariguana un origen divino y designaban a esta planta con el

nómbre de "VIJAHIA" (fuente de felicidad y buenos sucesos). (6).

El historiador Griego Herodoto en el año 450 A.C. - fue el primero en catalogarla como "fuente de - - ebriedad", al comentar el efecto placentero producido por la resina del cañamo o marihuana. (29).

Los discípulos del "Viejo de la Montaña" que eran sugestionados fácilmente por su jefe, después de fumarla y estar bajo la acción de la droga, se volvían sumisos y devotos, al sentirse trasladados al paraíso de Mahoma. La llamaban "Hachichins".

En el siglo VII se conocen las preparaciones de la marihuana en la zona comprendida entre India y el Mediterráneo (4).

Linneo en su "Amonitales Academia" en 1762, describe con el nombre de "Malash-Bang" a las composiciones a base de marihuana, muy utilizadas en India.

Posiblemente el primero en introducir la marihuana en Europa fué Sonnerat en 1782, después de un viaje que hizo a India. Sin embargo muchos creen que fue utilizada desde mucho tiempo atrás, con la ocupación de España por los Musulmanes. Posteriormente en 1798, se inicia la investigación de tipo Social, Moral y de Aplicaciones Médicas de la marihuana, y es así como se introduce en Europa Central.

La introducción de la marihuana en América del Sur, se debió a los conquistadores Españoles que en - - 1545 fomentaron su cultivo por las fibras de cañamo, en el territorio que ahora ocupa la República-

de Chile.

Se cree que fué introducida a México por un soldado llamado Pedro Cuadrado, de origen Español, - - quien llegó por primera vez a México en la Segunda Expedición de Cortés a la Nueva España; poco después se asoció a Francisco Terrezas y ambos se dedicaron a cultivar y explotar en esta tierra la mariguana. Se relata que la vendían a los indios. Su cultivo se extendió rápidamente tomando un incremento tal, que en 1550 el ayuntamiento se vió obligado a expedir varias ordenanzas especiales, confirmadas poco después por el Virrey Don Antonio de Mendoza, tendientes a limitar su explotación. (6).

Algunos creen que la mariguana es una planta autóctona y basan su afirmación en la distribución silvestre que tiene en el Continente y en el territorio Mexicano. Fray Bernardino de Sahagún describe una hierba que es conocida entre los indios con el nombre de "COATLAXOCUQUI", cuya preparación llamada ololinqui, era bebida por los hechiceros. (29).

En Norte América el cultivo del cáñamo fue introducido en 1606 por Louis Hebert, primero en Nueva Francia y después en Nueva Inglaterra. El interés por los cultivos de cáñamo decreció por el año de 1770, con el advenimiento de la fuerza de vapor y el uso del algodón, disminuyendo el comercio para los textiles a base de fibra de cáñamo. Aparentemente los colonialistas no usaron cáñamo por sus efectos intoxicantes.

El primero en realizar pruebas farmacéuticas con la resina de la mariguana fue Ludlow F.H. en 1857. (23).

El Dr. Horacio Wood en 1910, la recomendó como - - afrodisiaco y terapéutico. El Dr. Robinson V. en 1952 publicó dos artículos en los cuales narra sus experiencias al fumarla junto con sus amigos.

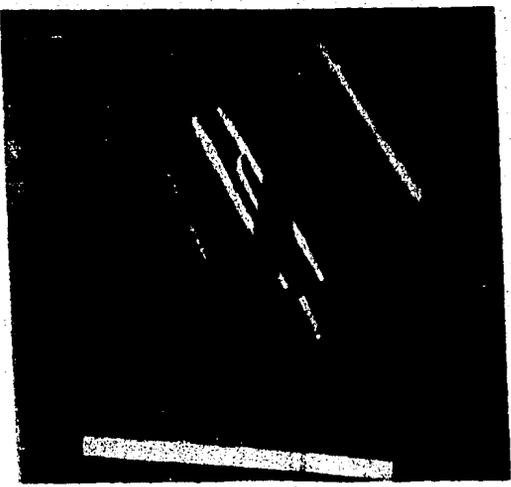
En la década de 1930 a 1940, la marihuana fue reconocida en la farmacopea de los Estados Unidos (XI) como Extractum Cannabis y Fluidextractum Cannabis, y usada terapéuticamente como analgésico y sedativo. (6). La Organización de las Naciones Unidas, - ha clasificado según la parte utilizada de la planta, con los términos siguientes:

"Marihuana para las preparaciones que contengan en su mayor parte hojas e inflorescencias (pequeños - tallos y alguna semilla). Figura No. 1-A.

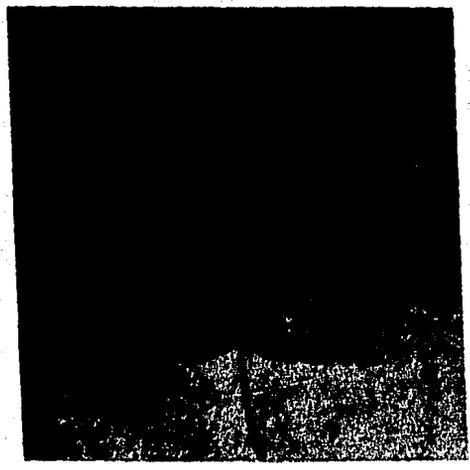
Ganja para las preparaciones que contengan principalmente inflorescencias, pero no hojas.

Hachis o llash para las preparaciones que contengan principalmente resina". (25). Figura No. 1-C.

En las publicaciones y entre los usuarios se suele llamar marihuana (fumada) a una mezcla de hojas y de inflorescencias. Fig. 1-A. A esta se le conocen otros nombres: Bhang (bebida y oral) se usa en India y a menudo solo se usan hojas; Maconha (fumada) en Brasil; Kif (fumada) en Marruecos; y Daggga (fumada y digerida) Africa del Sur; la palabra Ganja (fumada) a la preparación que se emplea en India; el término Hachis (fumado) es el que se utiliza para designar preparaciones resinosas; en cambio en Egipto es utilizado el término de Hachis a toda preparación de Cannabis. (23)



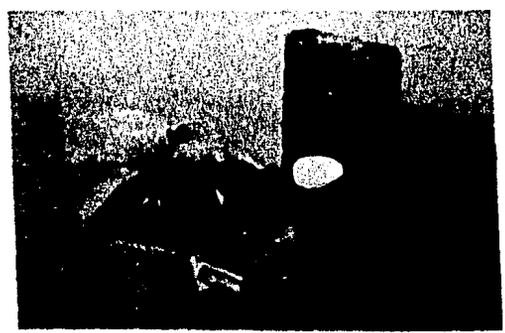
**SEMILLAS Y
"CIGARROS"
1 - A**



**HOJA
1 - B**



**1 - C
HACHIS**



**DIVERSOS TIPOS DE
EMPAQUE
1 - D**

La palabra mariguana se dice que es una corrupción del portugués "MARAGUNAG" también se dice que viene del mexicano antiguo "MALIGUANA", la cual proviene de Malli-cultivar- y Hua -tener-; también se supone que la palabra mariguana viene del vocablo potagua ya o planta de cáñamo. El vocablo árabe Hashish se supone deriva de la palabra inglesa-assassin (asesino), otra suposición es la que proviene del relato legendario "hassan" el "Viejo de la Montaña".

Los primeros trabajos referentes a la investigación química de la resina de la mariguana fueron realizados por los hermanos Smith, 1847, en Edimburgo, quienes lograron extraer resina relativamente pura y que llamaron "Cannabina parda".

Adams R. y Todd A. sintetizaron por primera vez en 1946 uno de los cannabinoides, siendo éste el cannabinal inactivo y como un resultado inesperado fue el descubrir un compuesto intermediario el "THC", que demostró tener actividad y se le nombró en ese entonces hachis libre. Adams en 1946, administró por primera vez el semisintético THC a voluntarios, comparando su actividad y encontrando que es semejante a la del hachis. Esto inicia la experimentación de numerosas síntesis de derivados que fueron probados en bioensayos como la prueba de la Ataxia en el perro.

Pocos fueron los avances realizados aproximadamente hasta 1960, debido a la polémica que se levantó en Estados Unidos acerca de la mariguana, en donde las autoridades se opusieron totalmente a la droga desde el punto de vista moral, social, policiaco y

hubo restricciones para permitir el uso médico y científico.

Krejci Z. y Santavy K., Schultz y Hanfner en 1950- investigaron separadamente que los componentes mas importantes y la mayor parte de la resina constitufa un grupo relacionado, a los cuales llamaron -cannabinoides. El ácido cannabidiólico al parecer- representa la conversión a los cannabinoides ya - que al descarboxilarse se convierte en CBD, da lugar a la reacción de Beam, además este ácido según Garlic, L.J. es el predominante en el ecotipo cultivado para fibra.

Garlic, L.J. en 1964 determina que el contenido de resina psicológicamente activa es superior en climas tropicales y que el tipo "maduro" contiene una gran cantidad de principio activo THC; encontró - también que en el tipo "inmaduro" predominaba el - contenido de ácido cannabidiólico, el desarrollo - fitoquímico de la conversión del ácido cannabidiólico, fue llamado de "maduración".

Kechatov, E.A., Asahina, H. y Farmilio en 1961, en contraron que en las muestras frescas predominaba- el ácido cannabidiólico, presentandose el proceso- de maduración por largos almacenamientos, además - las condiciones climatológicas, genéticas y varios factores ecológicos influyen en la composición química de la droga.

Mechoulam, R. en 1970, reporta que desde que se - probó la actividad psicomimética del THC en humanos, se han realizado numerosos estudios por científicos interesados en la actividad eufórica del - principio activo y sus isómeros; tratando de per--

feccionar los métodos de extracción, identificación, aislamiento y síntesis del principio activo y comparando su grado de actividad con el CBN, CBD, y otras sustancias como opio, LSD, alcohol, etc.; administrando algunas de estas sustancias por vía oral o inyectándolas por vía intraperitoneal e intravenosa en animales de experimentación, dosificando las cantidades de THC que producen diferentes estados físicos y psíquicos.

En la determinación cuantitativa del THC en muestras de marihuana se han preferido los análisis por cromatografía de gases. Este método fue aplicado por primera vez por Farmilo en 1961 y desde entonces se han probado numerosos sistemas.

En 1914 se realizó un estudio en la Universidad de Berlín acerca del efecto de esta droga. Debido a los resultados obtenidos fue considerada como productora de reacciones placenteras y la Comisión de Drogas y Narcóticos, las señaló como un escalafón hacia el uso de drogas mayores tales como morfina, cocaína, heroína, etc. Por este motivo, en 1952 el Comité Experto en Drogas restringió su uso terapéutico por producir efectos psicotóxicos y posiblemente adicción. (6)

De acuerdo con los estudios realizados por Stearn-W.T. (1970), la marihuana pertenece a la familia de las Cannabináceae, género Cannabis y especie sativa.

La Cannabis sativa L, es un género monotípico, con una especie polifórmica en la cual no se puede reconocer ninguna variedad botánica, esta especie única se ha diversificado, en varios ecotipos, que

obedecen a su plasticidad genética, a la influencia del medio ambiente y a la manipulación humana, por lo que los taxonomistas modernos están de acuerdo con Lineo, que en 1753 reconoció una sola especie. (5).

Se han obtenido ecotipos de un rendimiento muy elevado de aceite, o fibra mas larga, los cuales contienen pequeñas cantidades de principios narcóticos o carecen totalmente de ellos y a la inversa, hay ecotipos extremadamente narcóticos que carecen totalmente de valor comercial; sin embargo estos ecotipos pueden cultivarse en la misma región incluso en terrenos adyacentes. En estos casos, no es posible distinguir taxonimicamente ninguna característica morfológica estable. Estas mismas plantas transplantadas y cultivadas en diferente clima y medio, producirán una generación con alteraciones en la composición de la fibra, aceite y los cannabinoides. (11, 7).

Se han publicado diferentes denominaciones binomiales para la marihuana: Cannabis indica; C. americana; C. errática; C. gigantea, etc. La mayoría de los taxonomistas modernos no aceptan la nomenclatura de estas publicaciones. Cannabis Indica, es el binomio más utilizado, se emplea como si representara una especie distinta de la Cannabis Sativa y más a menudo para indicar un ecotipo de origen indú.

La marihuana es una planta herbácea exuberante, anual y dicotiledónea. Crece en forma silvestre en muchas partes del mundo, las condiciones óptimas para su cultivo son: suelos ricos en nitrógeno, clima seco, aunque florece también en zonas templadas.

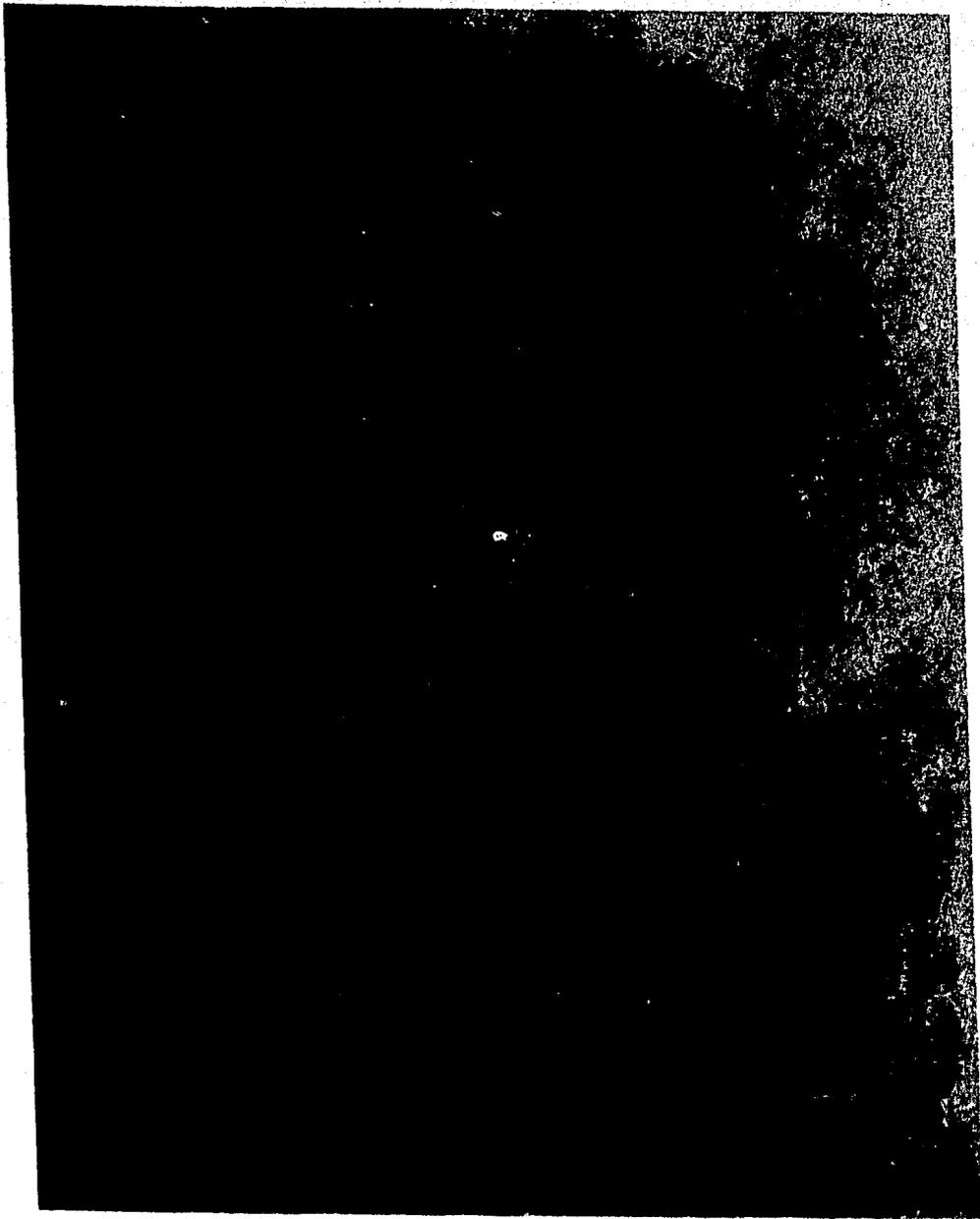


Figure No. 4 - A

Figure No. 4 - B

das y no prospera en zonas demasiado frías y en los trópicos húmedos y muy calientes.

El tallo es anguloso y con un diámetro de 3 a 15 milímetros aproximadamente, pubescentes, color verde oscuro a pardo claro. Las ramas llevan brácteas, aovadas, lanceoladas y pubescentes, encerrando cada una de ellas dos flores pistiladas o frutos no desarrollados. (44)

Las hojas son alternas y palmaticompuestas, los foliolos son lanceolados, dentados y en número de 5 a 7. En la epidermis superior de las hojas se observan paredes verticales onduladas sin estomas y además están cubiertas de pequeños tricomas que pueden ser de dos tipos:

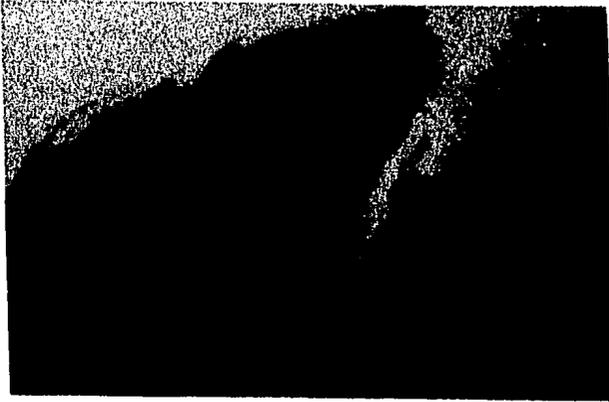
1. Pelos cistolíticos o no glandulares.
2. Pelos glandulares.

Los primeros presentan un depósito de carbonato de calcio, son unicelulares, con base ensanchada y tiene la forma de uña de gato. (28) Fig. 2-A.

Los segundos son de gran importancia ya que contienen y segregan la resina característica de la marihuana, pueden ser unicelulares y cortos o pluricelulares largos en forma de lengua, con la cabeza globosa de 8 a 16 células.

La marihuana es una planta dioica y su diferenciación es la siguiente:

Planta Masculina, las ramas están inclinadas y sobre ellas se encuentran las inflorescencias en peniculas axilares. Cada flor está constituida por -



400 X

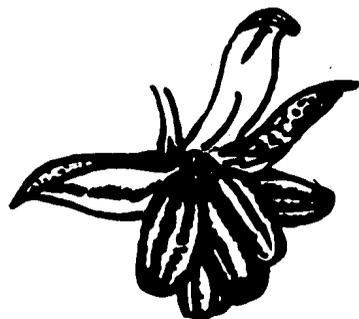
TRICOMA CARACTERISTICO

(UÑA DE GATO)

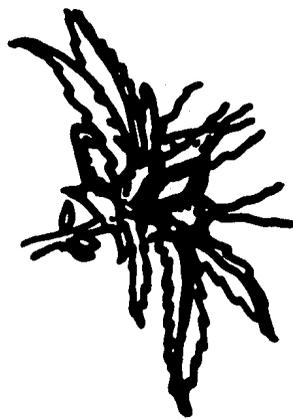
Figure no. 2 - A

cinco sépalos vellosos de color blanquecino o verde que miden 35 mm. de largo; presentan 5 estambres, y anteras con dehiscencia longitudinal. Los granos de polen tienen su contorno casi circular y con un diámetro de 25 a 30 micras. (3) Fig. 7-A

Planta Femenina, las flores femeninas en inflorescencias de tipo amento. Las flores individuales tienen un caliz inconspicuo adherido al ovario, y fuera de esta salen dos estigmas. La vaina está cubierta de finas vellosidades y pequeñas glándulas que segregan gotas de resina, ésta es producida en mayor cantidad en clima cálido seco. (3) Fig. 7-B.



7-A



7-B

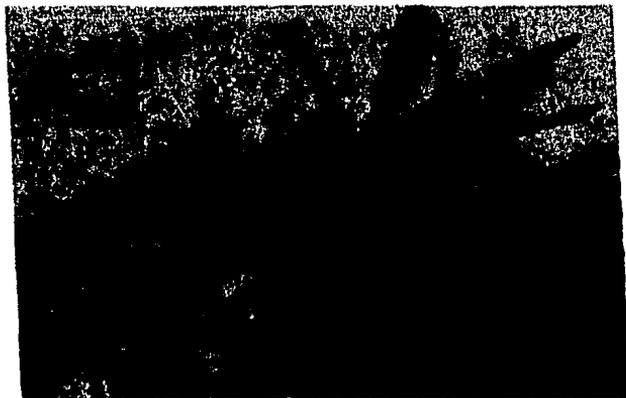
El contenido de resina en el vegetal en orden de--
creciente es el que se indica a continuación:

- | | |
|-------------|-------------|
| 1. Bracteas | 4. Tallos |
| 2. Flores | 5. Rafz |
| 3. Hojas | 6. Semillas |

Mechoulam (1973) reporta que la resina de Cannabis está formada esencialmente por:

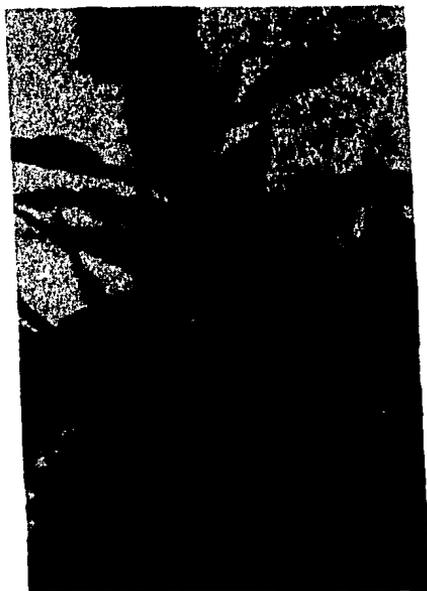
- a) Compuestos no Cannabinólicos.
- b) Compuestos Cannabinólicos.

PLANTA FEMENINA

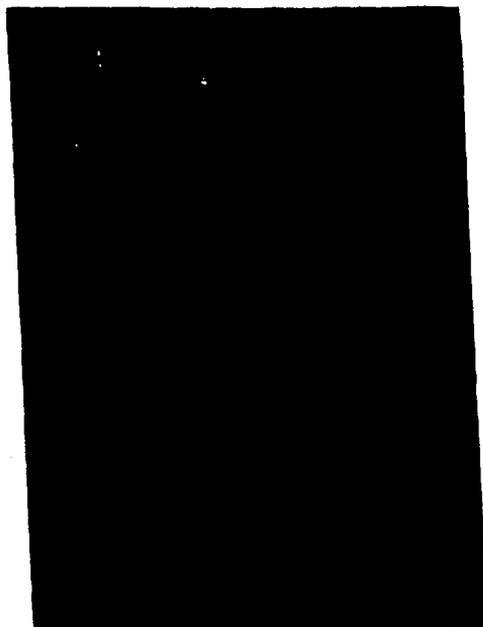


INFLORESCENCIA

Figure No. 5 - A



FRUTOS
Figure No. 5 - B



"COSECHA"
Figure No. 5 - C

PLANTA MASCULINA

18



Figure No. 6 - A



5 x

Figure No. 6 - B

Entre los compuestos No Cannabinólicos se tiene:

1. Alcaloides: Tales como la Piperidina y Cannabina, esta última presenta actividad fisiológica.
2. Ceras: La principal es la n-nonacosano que es fisiológicamente inactiva, además se han identificado gran cantidad de compuestos parafínicos.
3. Aceites esenciales: Se han logrado aislar; eugenol, cariofileno, limoneno y alfa sileno.

Con respecto a los compuestos Cannabinólicos, los principales son: tetrahidrocannabinol, cannabinol y cannabidiol. Estos cannabinoles han sido definidos como un grupo característico que presenta C_{21} y su nomenclatura de acuerdo a sus bases biogénicas es de mono y sesquiterpenos sustituidos.

Algunas propiedades de estos cannabionoides son:

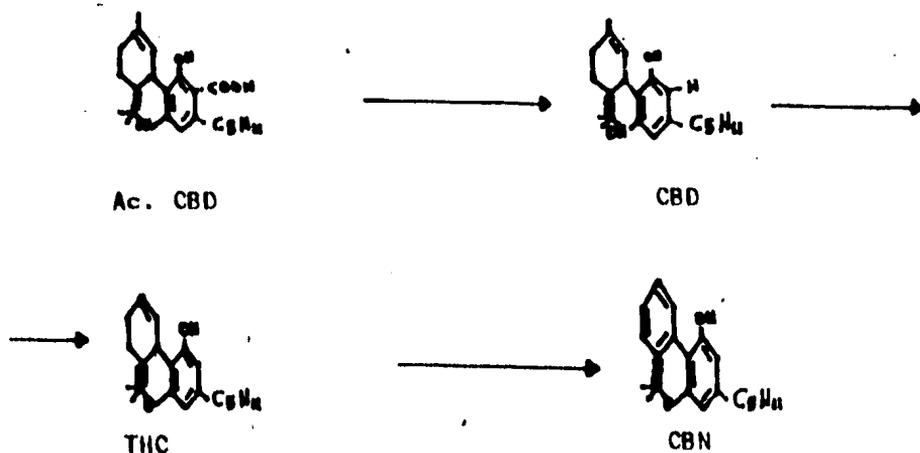
NOMBRE	FORMULA	PTO. DE FUSION	PROP. FARMACO LOGICAS.
Ac. Cannabidi6 lico.		43 - 47°C	Antibacteria- no. Sedante.
Cannabidiol		66 - 67°C	- - - - -
Tetrahidroca-- nnabinol.		aceite	Actividad Eu- f6rica.
Cannabino1		75 - 76°C	- - - - -

Mechoulam (1973), reporta que el contenido de cannabinoides en la resina de Cannabis es variable de acuerdo a las condiciones ecológicas en las cuales se desarrolle, así como a su edad. Esta variación ha sido estudiada en los principales cannabinoides, observándose que el precursor metabólico de estos compuestos es el Ac. CBD, y el producto final de su transformación es el CBN.

El proceso que se lleva a cabo es el siguiente:

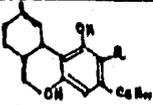
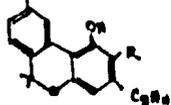
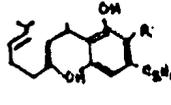
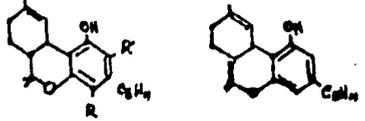
- Descarboxilación del Ac. CBD, dando CBD.
- Ciclización del CBD produciendo THC.
- Deshidrogenación de THC, transformándose en CBN.

Proceso de transformación metabólica de
Cannabinoides en la planta.



LISTA DE CANNABINOIDES CONOCIDOS AISLADOS EN PLANTAS

Según Academic Press, London & New York 1973 (Mechoulam, R.)

ACIDOS CANNABINÓICOS	CANNABINOIDES	FORMULA
Acido Cannabidiólico (CBDA)	Cannabidiol (CBD)	 <p>R = H, Cannabidiol R = COOH, Ac. Cannabidiólico</p>
Acido Cannabinólico (CBNA)	Cannabinol (CBN)	 <p>R = H, Cannabinol R = COOH, Ac. Cannabinólico</p>
Acido Cannabigerólico (CBGA)	Cannabigerol (CBG)	 <p>R = H, Cannabigerol R = COOH, Ac. Cannabigerólico</p>
Δ^9 -Ac. Tetrahidrocannabinólico (Δ^9 -THCA A Y B)	9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC)	 <p>R' = H y R'' = COOH, -THC Ac. A R' = COOH y R'' = H -THC Ac. B</p> <p>-Tetrahidrocannabinol</p>

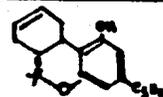
ACIDOS CANNABINOICOS

CANNABINOIDES

FORMULA

ACIDO 8 TETRAHIDROCANNABINOLICO
(Δ^8 -THCA)

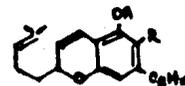
8-TETRAHIDROCANNABINOL
(Δ^8 -THC)



R=H, 8-TETRAHIDROCANNABINOL
R=COOH, 8-THC ACIDO.

ACIDO CANNABICROMENICO
(CBCA)

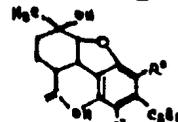
CANNABICROMENO
(CBC)



R=H, CANNABICROMENO
R=COOH, AC. CANNABICROMERO

ACIDO CANNABIELSOICO A Y B
(CBA A o B)

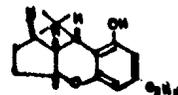
CANNABIELSONIO
(CBE)



R=COOH Y R'=H,
AC. CANNABIELSOICO A
R=H Y R'=COOH,
AC. CANNABIELSOICO B
R Y R'=H, CANNABIELSONIO

ACIDO CANNABICICLOLICO
(CBLA)

CANNABICICLOL
(CBL)



PROBABLEMENTE DERIVADO
DEL CANNABICROMENO

R=H, CANNABICICLOL
R=COOH, AC. CANNABICICLOLICO

ACIDOS CANNABINOICOS	CANNABINOIDES	FORMULA
ACIDO MONOMETIL ETER CANNABIDIOLICO (CBDAM)	MONOMETIL ETER CANNABIDIOL (CBDM)	
ACIDO MONOMETIL ETER CANNABIGEROLICO (CBGAM)	MONOMETIL ETER CANNABIGEROL (CBGM)	
	METIL ETER CANNABINOL (CBNM)	
	CANNABICITRAN (CBT) PRODUCIDO DURANTE EL ALMACENAMIENTO	
	ETER CANNABITRIOL O ACIDO CANNABIDIOLICO	<p data-bbox="1190 860 1367 890">CANNABICITRAN</p> <p data-bbox="1190 981 1517 1053">ETER CANNABITRIOL O ACIDO CANNABIDIOLICO (NECESITAN CONFIRMACION).</p>

La velocidad de estos cambios dependen del clima, es decir de la temperatura a la que se desarrolla la planta, si la temperatura es elevada este proceso se acelera, incrementandose el contenido de - - CBN; de lo contrario el contenido de CBD y THC es mayor que el contenido de CBN. De estos compuestos que se han mencionado, el THC es al que se le atribuyen propiedades psicotóxicas, y los compuestos restantes son considerados como menos activos o inactivos.

Las transformaciones metabólicas que sufre el THC en animales son aun muy poco conocidas, Burstein - (1973) reporta que Agurell en 1970 realizó un estudio en el cual se obtuvo que el 10 ó 15% de THC es excretado por vía urinaria dentro de las primeras 24 horas.

Respecto a la actividad psicotóxica de la marihuana se ha discutido mucho, pero los principales reportes que se conocen son los que ha dado la Organización Mundial de la Salud en 1971, el Instituto Nacional de Higiene Mental en el mismo año y la comisión Le Dain en 1972, obteniendo los siguientes resultados:

Los principales factores que influyen para producir diferentes grados de intoxicación en los individuos que consumen marihuana son:

- | | |
|---------|----------------------------|
| a) Raza | d) Historia medicofamiliar |
| b) Sexo | e) Historia familiar |
| c) Edad | f) Ocupación |

Paton W. y Peterwel (1973) describen los efectos generales producidos por el consumo de Cannabis y son:

1. La percepción visual es mayor para los colores, principalmente para el azul, verde amarillo, - rojo y blanco.
2. El sentido de la dimensión espacial es confuso y las distancias son elásticas.
3. Distorsión de los objetos, ya que parece que - éstos vibran.
4. Dilatación pupilar.
5. Agudeza auditiva, la apreciación y respuesta a sonidos musicales se incrementa.
6. Aumento en la fluidez de ideas, pero éstas no - corresponden al sitio y momento en el que se - encuentra.
7. Despersonalización, viven en un mundo irreal.
8. Pueden potenciar la actividad de los barbitúri - cos.
9. Hipotermia que se agudiza en las extremidades, pudiendo provocar vasoconstricción en los de - dos.
10. Aumento del pulso y presión arterial.
11. Aumenta el volumen urinario, así como la elimi - nación de sodio y bicarbonato.
12. Paranoia con delirio de persecución.
13. Euforia, placer, relajación, este efecto será - mayor o menor dependiendo de la idiosincracia - del individuo.
14. Abatimiento, náusea, vómito, irritación, palpi - taciones desagradables.
15. Aumento del apetito después de haber ingerido - la droga.
16. Alucinaciones agradables o desagradables depen - diendo del estado de ánimo del individuo.
17. Si se administran suspensiones acuosas por vfa - intravenosa su acción es letal, a un en baja - concentración.

Con lo que respecta a el hábito producido por la -

mariguana se han tomado en cuenta las definiciones de Adicción y Hábito reportadas por Miras C.J., - - (1965) y proporcionadas por la Organización Mun-- dial de la Salud.

ADICCION - Período de intoxicación crónica producida por el uso repetido de una droga natural o sinté tica, sus características son:

- a) Deseo abrumador o necesidad de seguir tomando - la droga y obtenerla por cualquier medio.
- b) Tendencia de aumentar la droga o dosis.
- c) Dependencia psicológica y física.

HABITO - Es una condición resultante del consumo - repetido de una droga, sus características son:

- a) Deseo de seguir tomando la droga pero sin lle-- gar a ser obsesivo.
- b) Poca tendencia a incrementar la dosis.
- c) Bajo grado de dependencia psicológica, pero no- existe de dependencia física.

De acuerdo con esto se concluyó que el uso de Ca-- nnabis sativa L. produce hábito y sin embargo consti tuye un problema social en todos los países.

III. MATERIAL Y REACTIVOS

Material:

Matraces aforados de 5 ml.
 Matraces aforados de 10 y 25 ml.
 Cápsulas de porcelana
 Tubos de ensayo con tapón de baquelita
 Gradillas
 Microjeringa de 10 y 100 μ l.
 Cámara cromatográfica.
 Placas cromatográficas de 10x20 y 20x20 cm. de vidrio impregnadas de gel-de sílice con indicador fluorescente f-254 preparadas por Merck y con un espesor de 0.3 mm.
 Aspersor
 Material común de laboratorio.

Aparatos:

Microscopio
 Balanza analítica
 Horno eléctrico
 Termo-plato
 Bomba de vacío y aire
 Lámpara Ultravioleta onda corta de 254 milimicras
 Cromatógrafo de gases Varian Aerograph modelo 2 100
 Espectrofotómetro de luz Infrarroja, Beckman, Acculab 6.

Reactivos:

Eter de petróleo	Dimetil formamida
Cloroformo	Reactivo de Duquenois
Etanol	Reactivo de azul sólido B.
Ciclo hexano	(o-dianisidina).
Tetracloruro de carbono	

IV - M E T O D O

De una planta de mariguana con semillas, proporcionada por la Procuraduría General de la República, se obtuvieron las semillas, separándolas de una forma manual del vegetal.

Las semillas separadas se trataron en un baño de agua destilada (Drake, B., 1978) para lograr la germinación, durante un periodo de 2 a 4 días, utilizando mayor tiempo para ese tratamiento que el reportado por Drake.

Esta germinación se logró en cajas de plástico provistas con una cama de algodón, de donde, se trasladaron las semillas germinadas por medio de pinzas esterilizadas a macetas de plástico de 25 cm. de altura y 30 cm. en los lados, a una mezcla de tierra esterilizada consistente en 20% de humus de marca comercial, 60% de tierra negra y 20% de arena fina de rfo, de marca comercial, esta mezcla se esterilizó en un autoclave a 7 kg/cm^2 durante 20 minutos.

Se utilizaron grupos de 10 plantas para cada maceta o lote siendo 6 el número de estos, los que se enumeraron del 1 al 6, y que se cultivaron bajo las mismas condiciones.

Se regaron diariamente todas las macetas con 200 ml. de agua corriente (Drake, B.), la temperatura varío de 17 a 32 grados centígrados, se utilizó luz natural y un cobertor eléctrico por debajo de las macetas con el fin de regular la temperatura por las noches. (9).

Al Lote marcado con el número 1, se le fijó un - - tiempo de desarrollo de 90 días a partir de su --- siembra, al Lote No.2 se le fijó un lapso de 105 - días, al Lote No.3 de 120 días, al Lote No.4 de -- 135 días, al Lote al lote 5 de 150 días y finalmente al Lote No. 6, 165 días de desarrollo. Al cabo del tiempo fijado para su desarrollo y a una hora determinada (15 horas), se recolectaron las hojas de las plantas que hablan de analizarse, quitando tallos, ramas e inflorescencias.

Las hojas obtenidas fueron secadas a temperatura - ambiente y se les redujo a polvo con ayuda de un - mortero de porcelana.

Extracción de la resina.

Se pesan 250 mg. de la muestra y se transfiere a - un tubo de ensayo de 15 x 100 mm. con tapón de baquelita. Se le añaden 15 ml. de cloroformo y se -- agita vigorosamente durante 10 minutos, se deja reposar y se filtra, se repite esta operación dos veces mas. Se evapora el solvente en baño maría, regulando el calor a la temperatura de ebullición -- del cloroformo. Se condensa el extracto y se afora en una matraz volumétrico, de 5 ml. con cloroformo. Esta resina se usa para la identificación y cuantificación de cannabinoides en cromatografía de capa delgada y en cromatografía en fase de vapor.

Se eligió el cloroformo como solvente de la resina ya que se han hecho varios estudios acerca de la - estabilidad de los cannabinoides y se obtuvo que - en cloroformo estos permanecían estables en un - - 100% durante 144 horas (Turner C., Hadley, K. W., - Davis K., 1969).

El extracto se mantuvo en refrigeración y protegido de la luz hasta el momento de estudiarlo. Medina, S.M. reporta que cuando se encuentra en temperaturas de -18°C , 4°C y 22°C sufren una descomposición de 3.83%, 5.38% y 6.92% respectivamente; en cambio si se encuentran a temperaturas mayores y en contacto con la luz, la descomposición será mayor y el estudio poco confiable.

Reacciones Colorimétricas.

Al material vegetal seco, antes de hacer la extracción de la resina, se le efectuaron reacciones de color para su identificación, las mismas que son las que utilizan los laboratorios químicos legales.

Estas reacciones son la de Duquenois-Levine y la sal de azul sólido B. Estas fueron escogidas, ya que en la actualidad en los laboratorios de química legal la recomiendan como pruebas prácticas que dan un resultado aceptable dado el grado de sensibilidad y confiabilidad que presentan con el principio activo THC.

Reacción de Duquenois-Levine. En un tubo de ensayo se toma una pequeña cantidad de muestra, se añaden 2 ml. del reactivo de Duquenois (0.4 g. de vainillina más 0.06 g. de acetaldéhidro en 20 ml. de etanol al 95%), se agita de 2 a 3 minutos y se agregan lentamente de 1 a 2 ml. de ácido clorhídrico concentrado, y se observa el desarrollo de color azul violeta, se le añade de 2 a 3 ml. de cloroformo. Observando que ésta capa se va al fondo del tubo, el cloroformo extrae parcialmente el color de la capa superior (capa acuosa), teniendo como resultado positivo el color de azul intenso a viole-

ta (malvarrosa) en las dos capas. El cloroformo so lo extrae a compuestos con molécula semejante a la de los cannabinoides.

Reacción de la sal azul sólido B de Merck.

En un tubo de ensahe se coloca una pequeña muestra de mariguana y se le añaden 2 ml. de etanol, agitando durante 2 a 3 minutos y se agregan 20 mg. del reactivo sal de azul sólido B. Se observa al cabo de un minuto una coloración rojo bugambilia.

Observación Microscópica.

En este estudio se observan los tricomas en forma de uña de gato que presenta la epidermis de las hojas de la mariguana. Fig. No. 2-A.

Se adiciona una gota de HCl al 16% a la preparación que contiene la epidermis de la hoja y se observa una ligera efervescencia producida por los cristales de carbonato de calcio presentes en la base de los pelos. (33)

Separación e identificación de cannabinoides por cromatografía en capa delgada:

Se utilizan placas de vidrio de 20x20 cm. con un soporte de silicagel con un espesor de 0.25 m., así como tres cámaras de cromatografía: una con el sistema de solventes Dimetilformamida-Tetracloruro de carbono (60-40), otra cámara que contiene únicamente ciclohexano, y una última cámara que contiene una mezcla ciclohexano-cloroformo (50-50) y se dejan saturar. Para obtener una mejor saturación de las cámaras se les introdujo un revestimiento -

de papel filtro (Sthal E. 1973).

Ya que las cámaras se han preparado, se procede a llevar a cabo la cromatografía de la siguiente manera:

Se introducen las placas a la cámara que contienen la mezcla de solventes de dimetil formamida-Tetracloruro de carbono para su impregnación, una vez impregnadas se secan durante 15 minutos a temperatura ambiente y se le aplican 50 ul. de extracto-cloroformico con una microjeringa. Una vez aplicada la muestra se introduce a la cámara que contiene el ciclohexano y se desarrolla hasta el frente marcado que es de 14 cm. se deja secar 15 minutos a temperatura ambiente y finalmente se introduce en la cámara que contiene la mezcla de ciclohexano-cloroformo, se desarrolla hasta el frente marcado, se deja secar dos o tres minutos y se vuelve a desarrollar en esta mezcla de ciclohexano-cloroformo.

Los cannabinoides se detectan usando como revelador una solución al 0.5% de O-dianisidina en una mezcla de 1:1 de agua-hidróxido de sodio 0.1 N.

Las modificaciones hechas al método son: El tiempo de secado entre la impregnación y la aplicación de la muestra, (30) ya que Merck indica 30 minutos y la segunda modificación es la mezcla del cloroformo-ciclohexano para los dos últimos corrimientos de las placas obteniéndose una mayor resolución de los compuestos.

Cromatografía en Fase de Vapor.

En este estudio se usa el mismo extracto clorofór-

mico que para la cromatografía en capa delgada: se utilizó un cromatógrafo gas-licuado Varian Aerograph 2100 con una columna OV-17 al 2% sobre Chromosorb w, esta columna fue reportada por Turner - en 1973 para la separación de cannabinoides.

Condiciones de trabajo:

Muestra: Cannabis sativa L.

Concentración: 250 mg. de planta en 5 ml. de cloroformo, Vol. inyectado 6 μ l.

Aparato: Varian Aerograph modelo 2100

Detector: Ionización de flama

Columna: Largo 1.8 m.

Diámetro interno: 0.30 cm.

Fase estacionaria OV-17 2% (fenil - silicón)

Soporte: Chromosorb w (tierra - de diatomas)

Gas de arrastre: Nitrógeno

Flujo = 30 ml/min.

Flujo de hidrógeno: 30 ml/min.

Flujo de aire: 300 ml/min.

Temperaturas:

Detector: 300°C

Inyector: 270°C

Columna: 210°C (isotérmica)

Velocidad del registrador: 25.4 cm/hr.

Atenuación: 16

Rango: 10-11

Separación e Identificación del Δ^9 - THC.

Para llevar a cabo la separación, se usó la combinación de dos métodos:

- 1.- Cromatografía en capa delgada
- 2.- Cromatografía en columna

En el primer caso se obtienen placas de cromatografía en la misma forma que se indica en el método de cromatografía en capa delgada, con la diferencia de que se aplican 200 μ l de un extracto obtenido a partir de 500 mg. de la muestra de Cannabis sativa L. procedente del Estado de México.

Ya que se ha desarrollado la placa, se revela únicamente un carril que servirá de guía.

Una vez extraído se pasa a una columna de cromatografía previamente preparada con sílica gel G como soporte y se eluye el THC contenido en la columna de cloroformo.

Espectro de Infrarrojo.

El líquido eluido se recibe en una pastilla de KBr (200 mg) que se encuentra sobre una parrilla a -30°C , procurando que las gotas caigan en el centro de la pastilla y que el cloroformo se vaya evaporando lentamente para evitar la descomposición del THC, el residuo oleoso queda sobre la pastilla, éste se identifica usando el espectrofotómetro de I.R. Beckman modelo acculab 6, y obteniéndose su I.R.

V. RESULTADOS

REACCIONES COLORIMÉTRICAS:

Se utilizaron dos reacciones la de Duquenois Levine y la sal de azul sólido B de Merck (di-o-dianisidina tetrazólium).

Se llevaron a cabo estas reacciones por ser de fácil interpretación, rápido resultado y además son las usadas en el laboratorio de la Procuraduría General de Justicia del Distrito Federal, así como en otros laboratorios forenses que las recomiendan por tener un resultado confiable.

A las diferentes muestras de los lotes numerados se les efectuaron estas reacciones, siendo un resultado positivo para la prueba de Duquenois una coloración que va del color azul intenso (++++), al violeta (++) , tanto en la capa acuosa, como en la capa cloroformica.

Reacción de Duquenois-Levine.

Muestra No.	Coloración en ambas capas	Resultado
No. 1 90 días	azul intenso	++++
No. 2 105 días	azul	++++
No. 3 120 días	azul	++++
No. 4 135 días	azul - violeta	++++

No. 5 150 días	violeta	+++
No. 6 165 días.	violeta pálido	++

Los resultados obtenidos con la sal de azul sólido son cualificados también con una reacción de producción de color.

El resultado positivo para esta reacción, es la producción de una coloración rojiza (+), que puede variar de intensidad hasta el rojo brillante - - - (++++).

Reacción con la sal de azul sólido B de Merck.

<u>Muestra No.</u>	<u>Coloración Obtenida</u>	<u>Interpreación del Resultado</u>
No. 1 90 días	Rojo Intenso	+ + + +
No. 2 105 días	Rojo Intenso	+ + + +
No. 3 120 días	Rojo Intenso	+ + + +
No. 4 135 días	Rojo Intenso	+ + +
No. 5 150 días	Rojo Pálido	+ +
No. 6 165 días	Anaranjado Rojiso	* Positivo +

* Tarda más tiempo en dar la reacción y la inter--

pretación de este resultado no es tan clara como - en las anteriores reacciones.

(+) Indica el grado de positividad.

OBSERVACION MICROSCOPICA.

Se observaron las epidermis de las hojas de los lotes numerados, localizando visualmente a las vellosidades (tricomas) con un aumento de 12.5X40, los tricomas caracterfsticos son unicelulares y se comprobó que presentan la forma de uña de gato. También se localizarón pelos glandulares.

Al adicionar el ácido clorhídrico reaccionaron con una ligera efervescencia, debida a los cristales de carbonato de calcio, que al estar en contacto con el HCl desprenden bioxido de carbono.

Esto es con todos los lotes experimentados como puede observarse en el cuadro de resultados a continuación:

<u>Muestra No.</u>	<u>Tricomas</u>	<u>Reacción efervescente</u>
1	Observaciones	Positiva.
2	Observación	Positiva.
3	Observación	Positiva.
4	Observación	Positiva.
5	Observación	Positiva.
6	Observación	Positiva.

CROMATOGRAFIA EN CAPA DELGADA

Por este método se lleva a cabo la identificación y separación de los cannabinoides contenidos en cada una de las muestras.

T A B L A No. 1

Edad y No. de la muestra	No. de cannabinoides separados	Rf		
		THH	CBN	CBD
90 días No. 1	6	0.76	0.39	0.06
105 días No. 2	6	0.76	0.40	0.06
120 días No. 3	6	0.76	0.45	0.11
135 días No. 4	6	0.80	0.45	0.13
150 días No. 5	5	0.77	0.33	0.10
165 días No. 6	4	0.78	0.35	No se Localizo

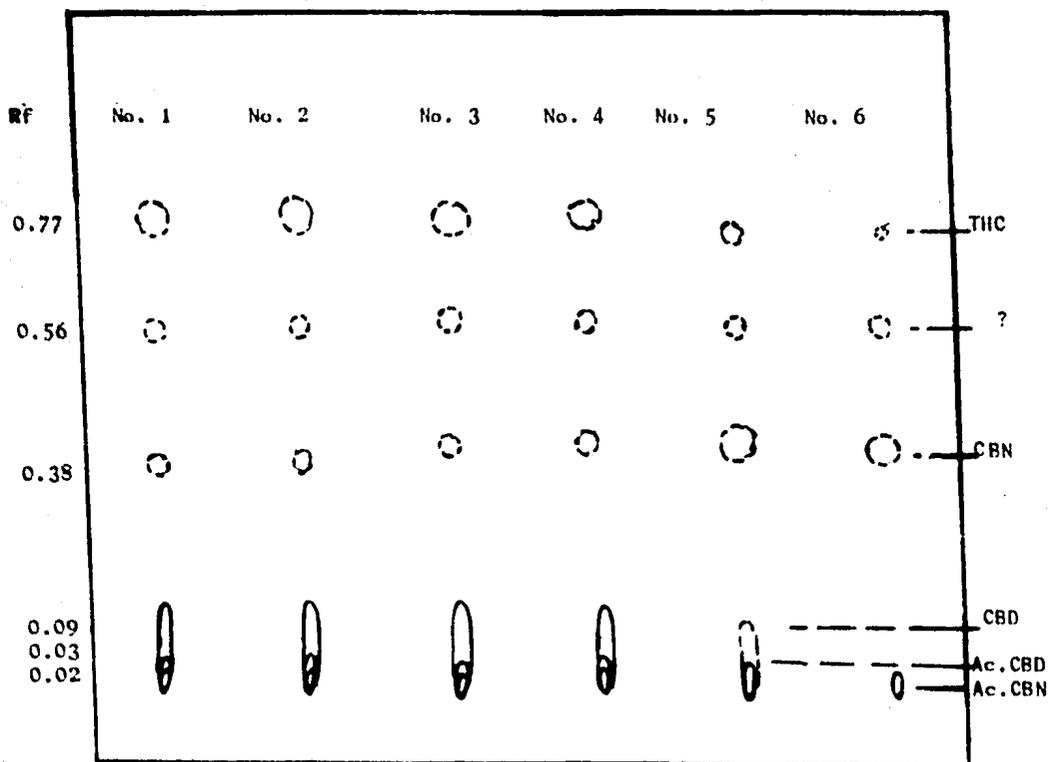
En la presente tabla se muestran los valores de Rf para el-THC, CBN y CBD, así como el número de cannabinoides separados en cada muestra.

T A B L A N o. 2

Cannabinoides	RF
AC. Cannabidiólico	0.03
AC. Cannabinolico	0.02

En la tabla se pueden observar los valores de RF obtenidos para los ácidos cannabinólicos que fueron identificados en las muestras de Cannabis Sativa.

El RF indicado es el valor que en promedio se obtuvo para las cinco primeras muestras, ya que para el lote no. seis, no se localizó el ácido cannabidiólico.

PLACA DE CROMATOGRAFIA DELGADA

THC = Tetrahidrocannabinol

(rojo)

CBN = Cannabinol

(violeta)

CBD = Cannabidiol

(naranja)

Ac. CBD = Acido cannabidiolico

(púrpura)

Ac. CBN = Acido cannabinolico

(violeta)

ESPECTROS I.R..

Se obtuvieron los espectros de I.R. de cada muestra a partir de la resina total, aplicándola sobre pastillas de KBr y corridas en un espectrofotómetro de luz infrarroja, modelo "Acculab 6". En las cuales se obtuvieron resultados muy parecidos y éstos a su vez se compararon con el espectro infrarrojo de la resina total que fue reportada por Okamoto - T. y Watanabe K. (1969), los resultados fueron similares coincidiendo en varios puntos, que son:

Micrones	2.94	3.45	3.52	6.2	6.32	7.00
cm ⁻¹	3400	2898	2833	1632	1580	1428

Y de acuerdo con los datos reportados por Creswell C.J. Runquist O. A y Campell M.M (1972), tenemos que:

De 3500 a 3100 se identifican radicales -OH
 De 1975 a 2860 se identifican radicales CH₃
 De 1675 a 1625 se identifican radicales C = C (alifáticos y aromáticos).

Encontrando que todas estas estructuras están incluidas en la fórmula general de los cannabinoides.

El THC extraído de la planta y purificado por cromatografía en columna comparado con el I.R. del THC standart, se puede observar que existen tres puntos de diferencia entre el THC extraído y el THC ST. Esto posiblemente sea causado por los isómeros del THC, ya que el THC extraído puede estar presente tanto el delta-8, como el delta-9THC.

SPECTRUM NO. 1
 DATE 1981
 SAMPLE _____
 SOURCE _____
 STRUCTURE _____

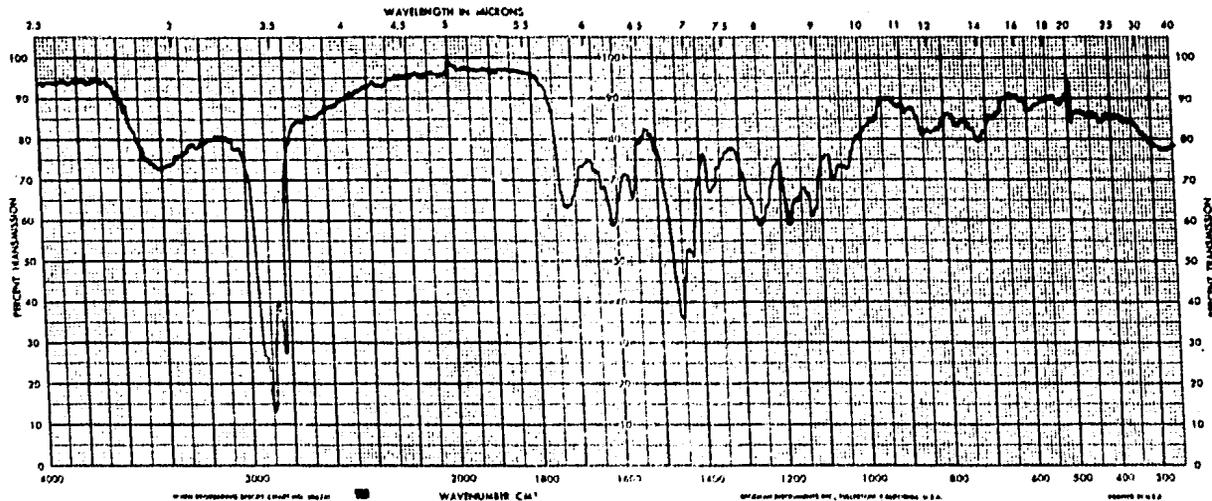
PATH _____
 SOLVENT Kbr
 CONCENTRATION _____
 PHASE solida
 COMMENTS C.C.R.

 Reference: Alca

 ANALYST _____

Beckman

INFRARED
 SPECTROPHOTOMETER



Espectro de absorción infrarrojo de la muestra de resina de marihuana, lote n.º. 1
 con 90 días de desarrollo.

24
 C4

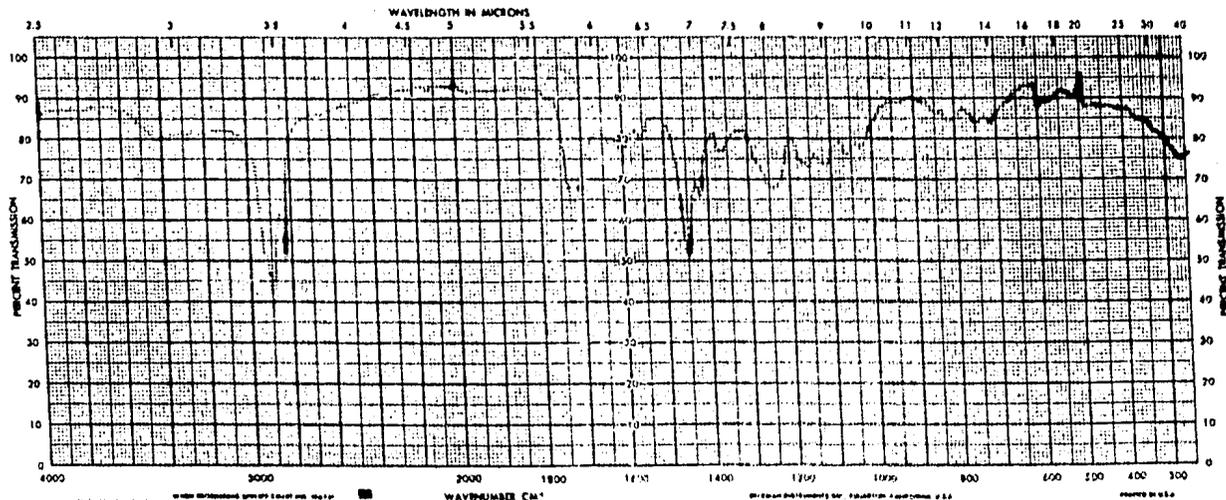
SPECTRUM NO. 2
DATE 1981
SAMPLE _____
SOURCE _____
STRUCTURE _____

PATH _____
SOLVENT kbr
CONCENTRATION _____
PHASE solida
COMMENTS Se trabajo
al lado con la referencia
Alca

ANALYST CCR

Beckman

INFRARED
SPECTROPHOTOMETER



Espectro de absorción infrarrojo de la muestra de resina de marihuana, lote núm. 2
en 105 días de desarrollo.

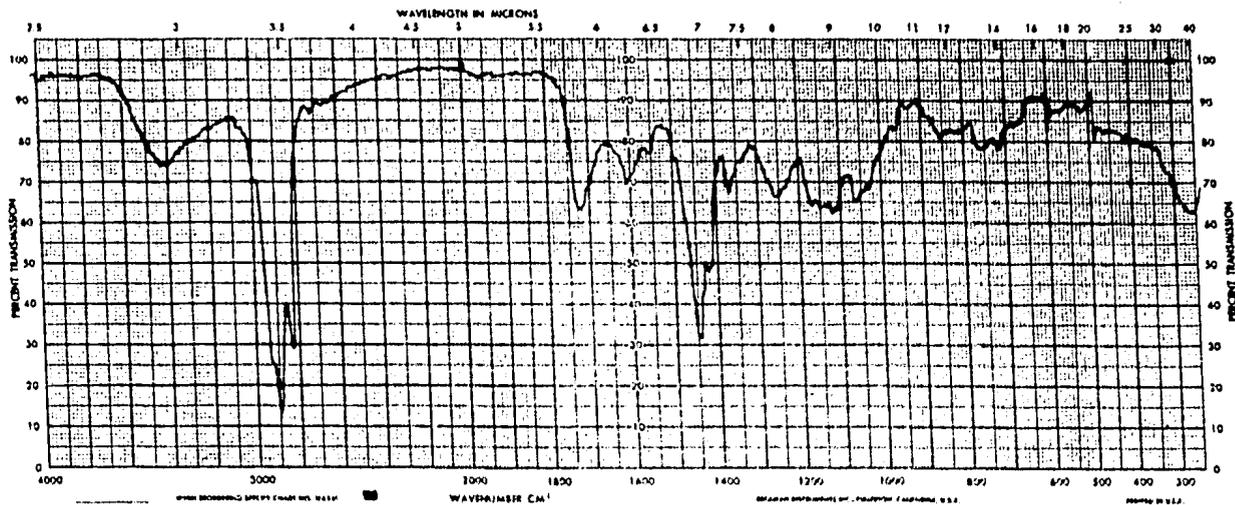
SPECTRUM NO. 3
 DATE 1981
 SAMPLE _____
 SOURCE _____
 STRUCTURE _____

PATH _____
 SOLVENT KBr
 CONCENTRATION _____
 PHASE solida
 COMMENTS Resina de hirs

ANALYZER GRAVIMETRIC

Beckman

INFRARED
 SPECTROPHOTOMETER



Espectro de absorción infrarrojo de la muestra de resina de mariguana, lote n.º. 3
 con 120 días de desarrollo.

SPECTRUM NO. 4
 DATE 1981
 SAMPLE _____
 SOURCE _____
 STRUCTURE _____
 PATH _____
 SOLVENT KBr
 CONCENTRATION _____
 PHASE solido
 COMMENTS _____

Reserva: Alina

ANALYST ALINA GARCIA



Espectro de absorción infrarrojo de la muestra de resina de mariguana, lote nóm. 4 con 135 días de desarrollo.

SPECTRUM NO. 5

DATE 1981

SAMPLE _____

SOURCE _____

STRUCTURE _____

PATH _____

SOLVENT Kbr

CONCENTRATION _____

PHASE solida

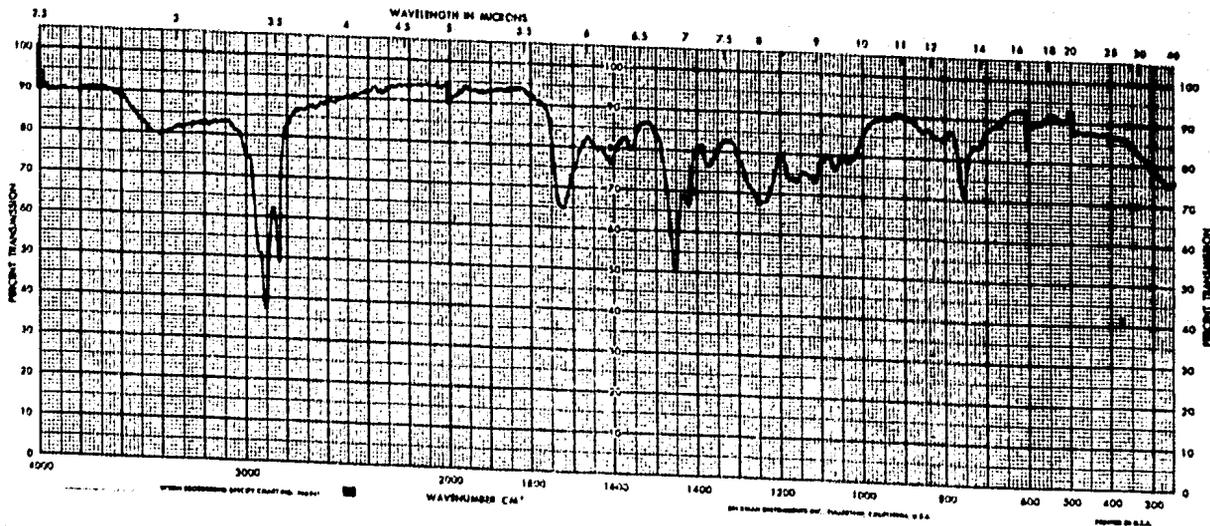
COMMENTS _____

Referencia: Aire

ANALYST LEON I. GARCIA

Beckman

INFRARED
SPECTROPHOTOMETER



Espectro de absorción infrarrojo de la muestra de resina de marihuana, lote n.º 5 con 150 días de desarrollo.

SPECTRUM NO. 6

DATE 1981

SAMPLE marihuana

SOURCE _____

STRUCTURE _____

PATH _____

SOLVENT Kbr

CONCENTRATION _____

PHASE solido

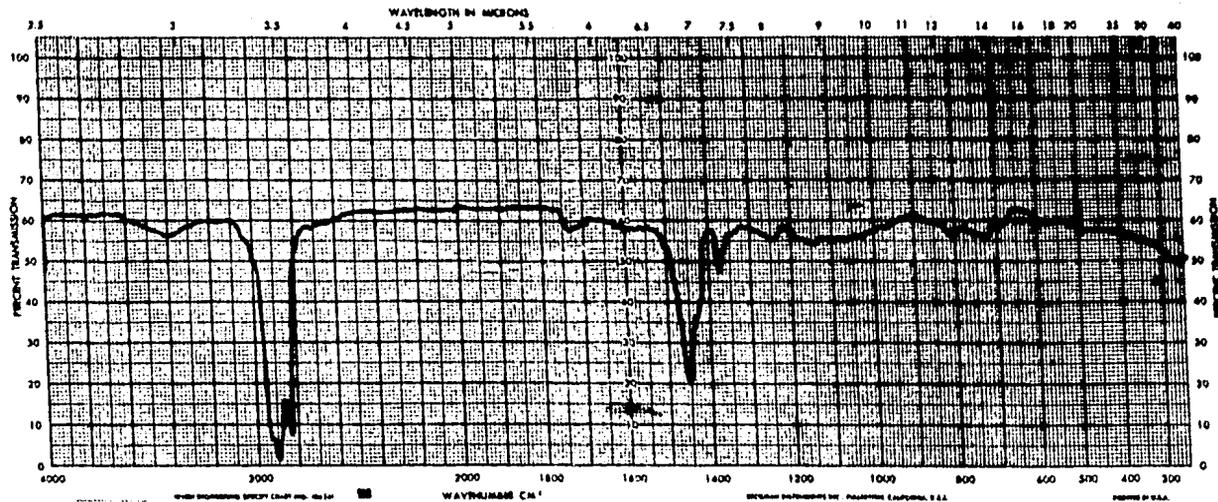
COMMENTS _____

Referencia: Aire

ANALYST carriedo

Beckman

INFRARED
SPECTROPHOTOMETER



Espectro de absorción infrarrojo de la muestra de resina de marihuana, lote n.º 6 con 165 días de desarrollo.

SPECTRUM NO. 7
DATE 1981
SAMPLE THC
SOURCE _____
STRUCTURE _____

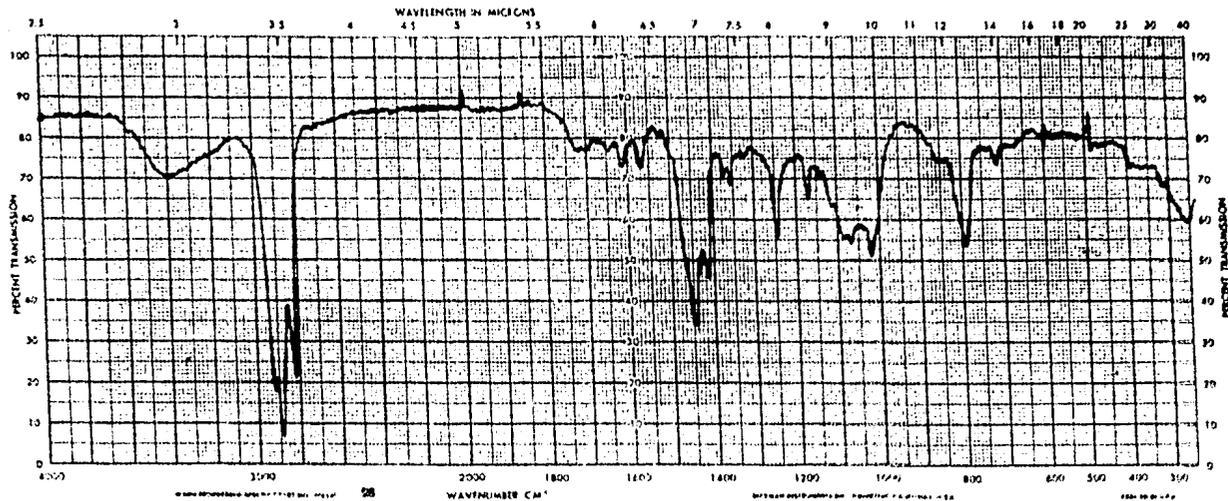
PATH _____
SOLVENT KBr
CONCENTRATION _____
PHASE solida
COMMENTS _____

A referencia Aire

ANALYST carriado

Beckman

INFRA-RED
SPECTROPHOTOMETER



Espectro de absorción infrarrojo de la muestra de resina de THC.

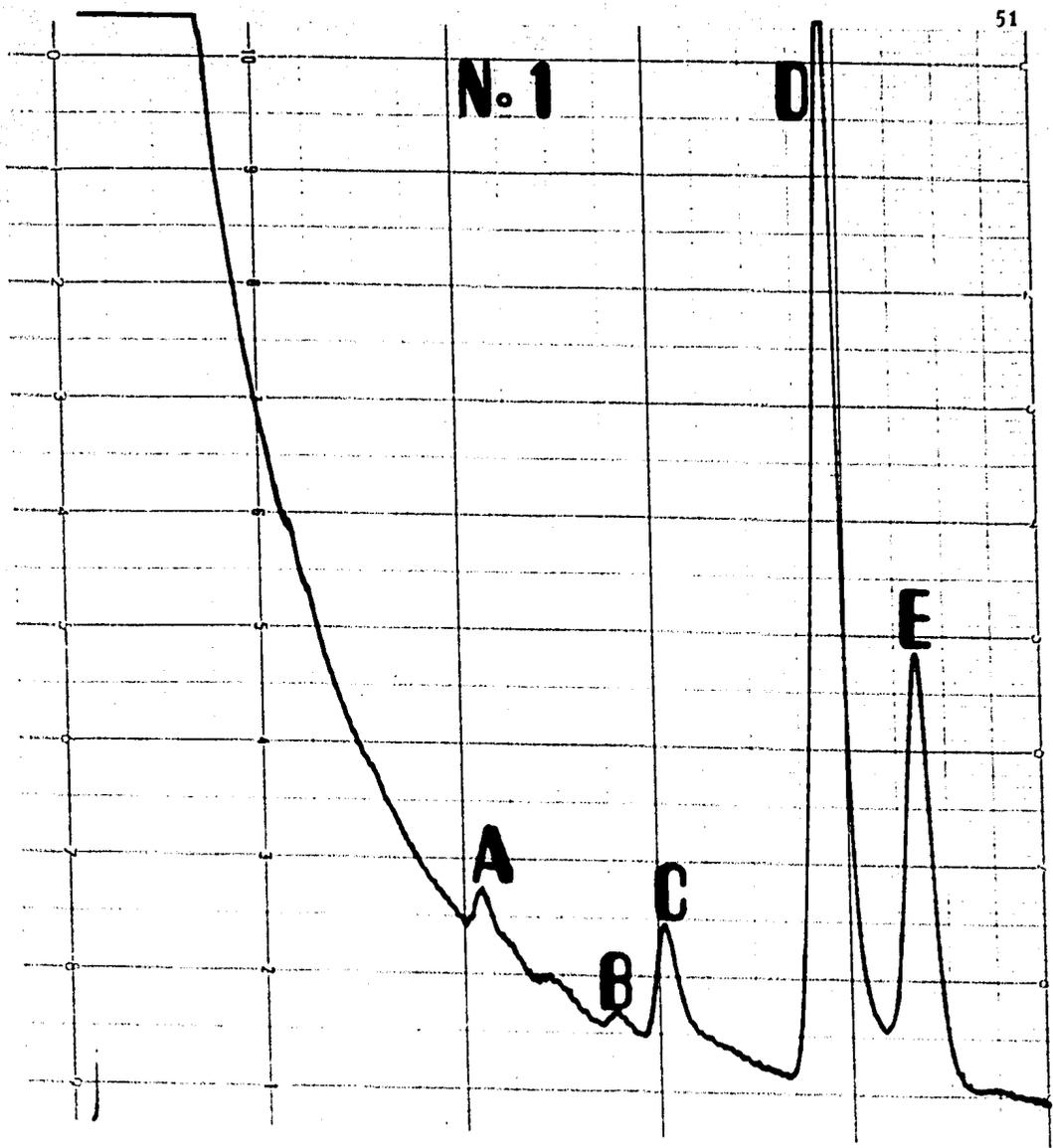
**DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE THC, CBN y -
CBD POR CROMATOGRAFIA EN FASE DE VAPOR.**

En este análisis se determinó el número de cannabi-
noides separados, así como la concentración de los
tres principales (THC, CBN y CBD) en cm^2 , usando -
para éste fin el método de triangulación y la fórm-
ula del área del triángulo.

la cual es: $\frac{b \times h}{2}$

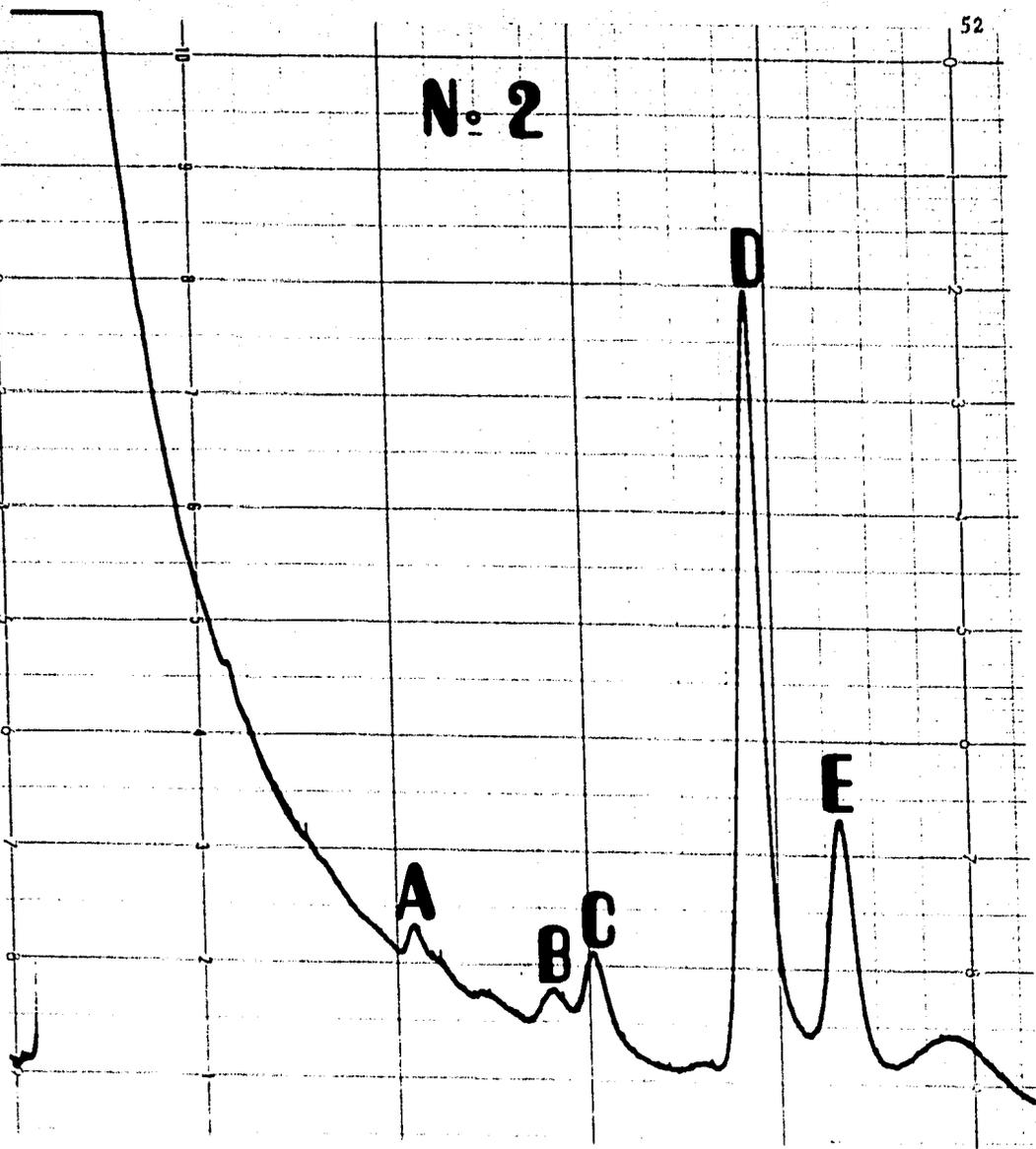
MUESTRA	NO. DE CANNABINOIDES SEPARADOS	AREA EN CM^2		
		THC	CBN	CBD
1.- 90 días	5	14.64	4.65	2.17
2.- 105 días	5	9.84	5.63	1.92
3.- 120 días	5	8.58	5.15	1.84
4.- 135 días	5	5.67	-	0.66
5.- 150 días	5	1.68	8.00	0.48
6.- 165 días	4	0.56	8.32	-

La presente tabla muestra los resultados obtenidos
en la determinación del área de las curvas de THC,
CBN y CBD, por el método de cromatografía en fase-
de vapor en los 6 diferentes tiempos de desarrollo,
de la planta de mariguana.



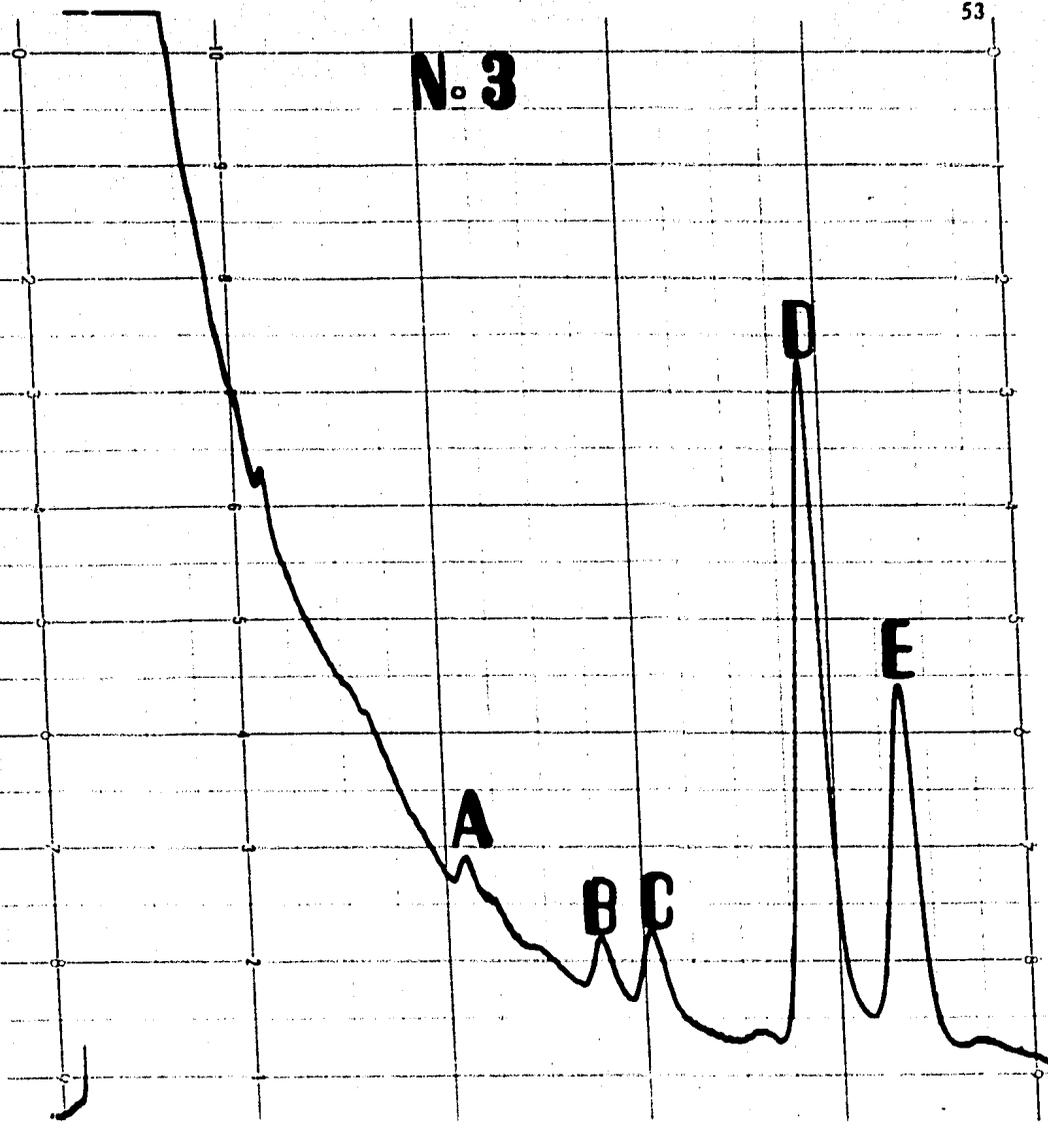
Cromatograma No. 1 obtenido de la muestra de Marihuana con 90 días de desarrollo en la que se pueden observar los siguientes compuestos: A: Cannabidiol; B: THCV; C: (CBD); D: (THC) E: (CBN).

N: 2



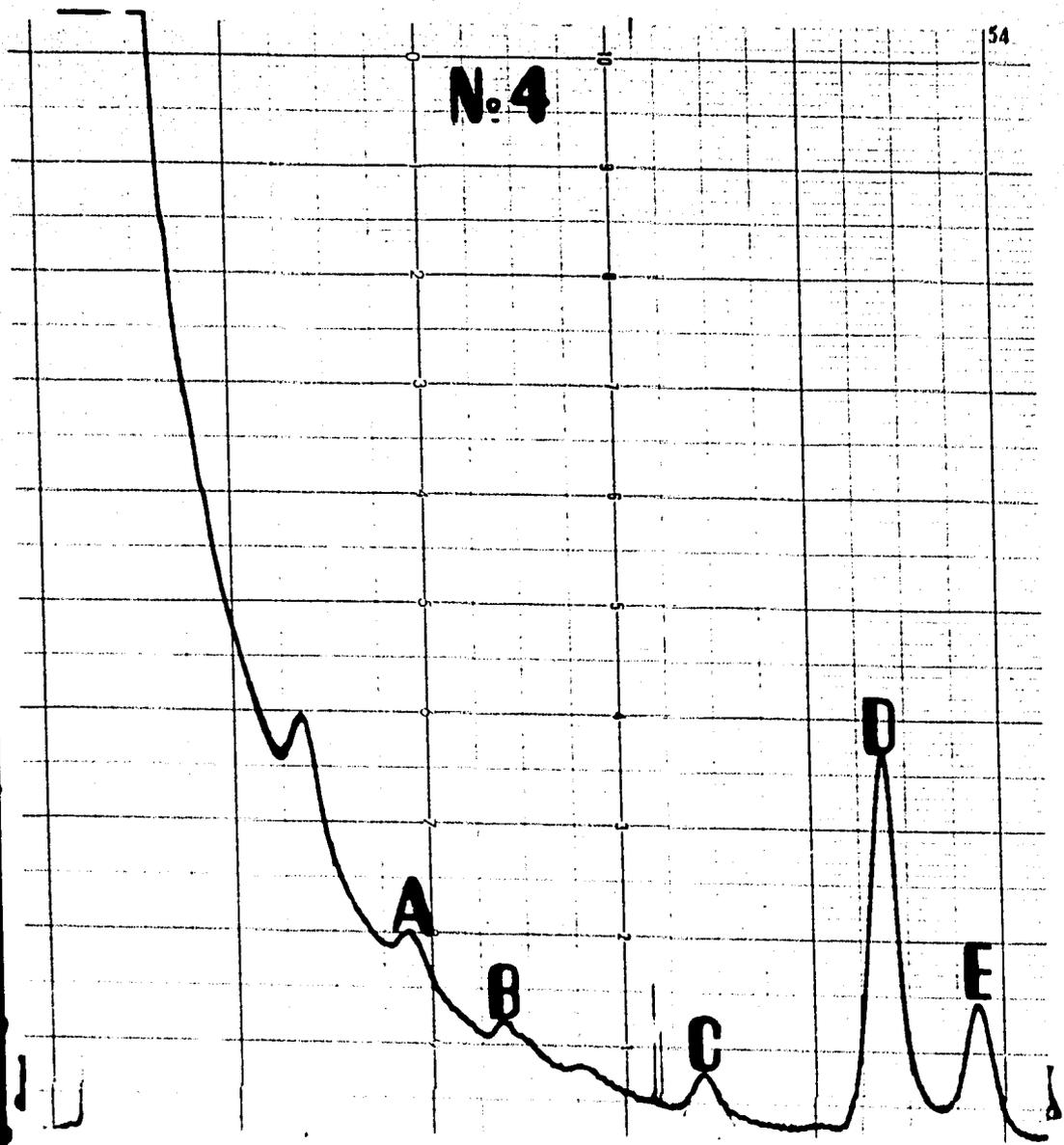
Cromatograma No. 2 obtenido de la muestra de Marihuana con 105 días de desarrollo, en la que se pueden observar los siguientes compuestos: A: Cannabidivarina; B: THCV; C: (CBD); D: (THC); E: (CBN).

N. 3



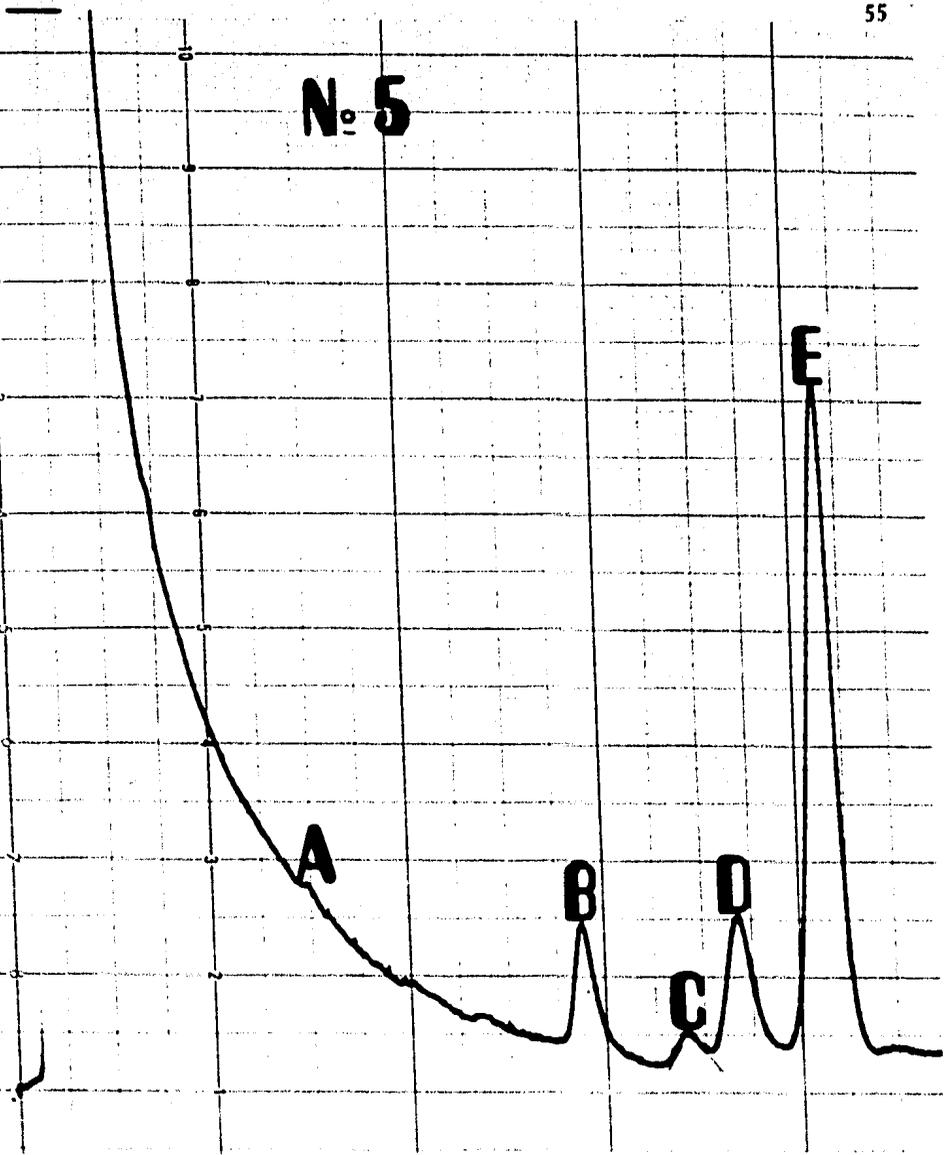
Cromatograma No. 3 obtenido de la muestra de Marihuana con 120 días de desarrollo, en la que se pueden observar los siguientes compuestos: A: Cannabidivarina; B: THCV; C: (CBD); D: (THC); E: (CBN).

N.º 4



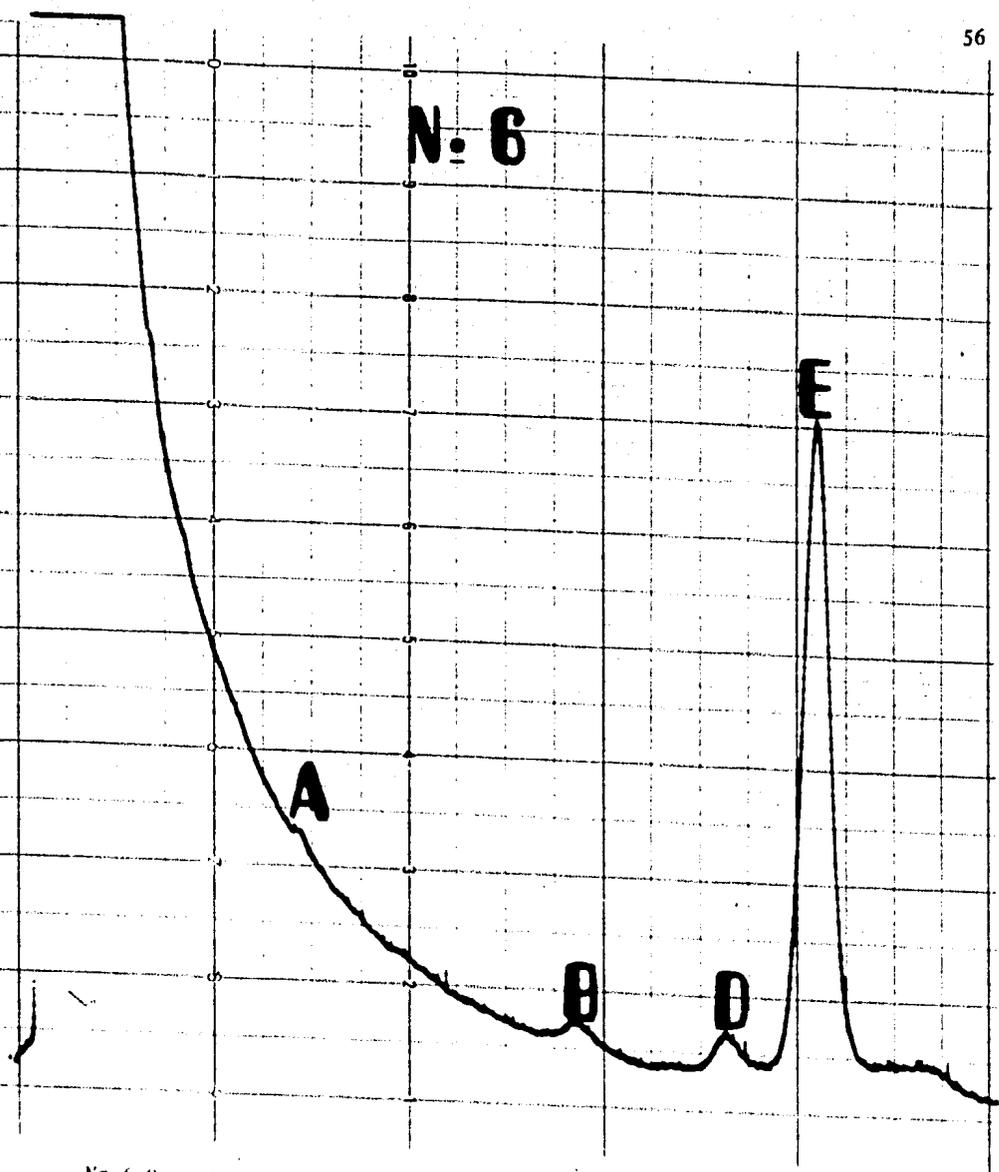
Cromatograma No.4 obtenido de la muestra de Marihuana con 135 días de desarrollo, en la que se pueden observar los siguientes compuestos: A: Cannabidivarina; B: THCV; C: (CPD); D: (THC).

N: 5



Cromatograma No. 5 obtenido de la muestra de Marihuana con 150 días de desarrollo en la que se pueden observar los siguientes compuestos: A: Cannabidiarina, B: THCV; C: CBD; D (THC); E: (CBN).

N. 6

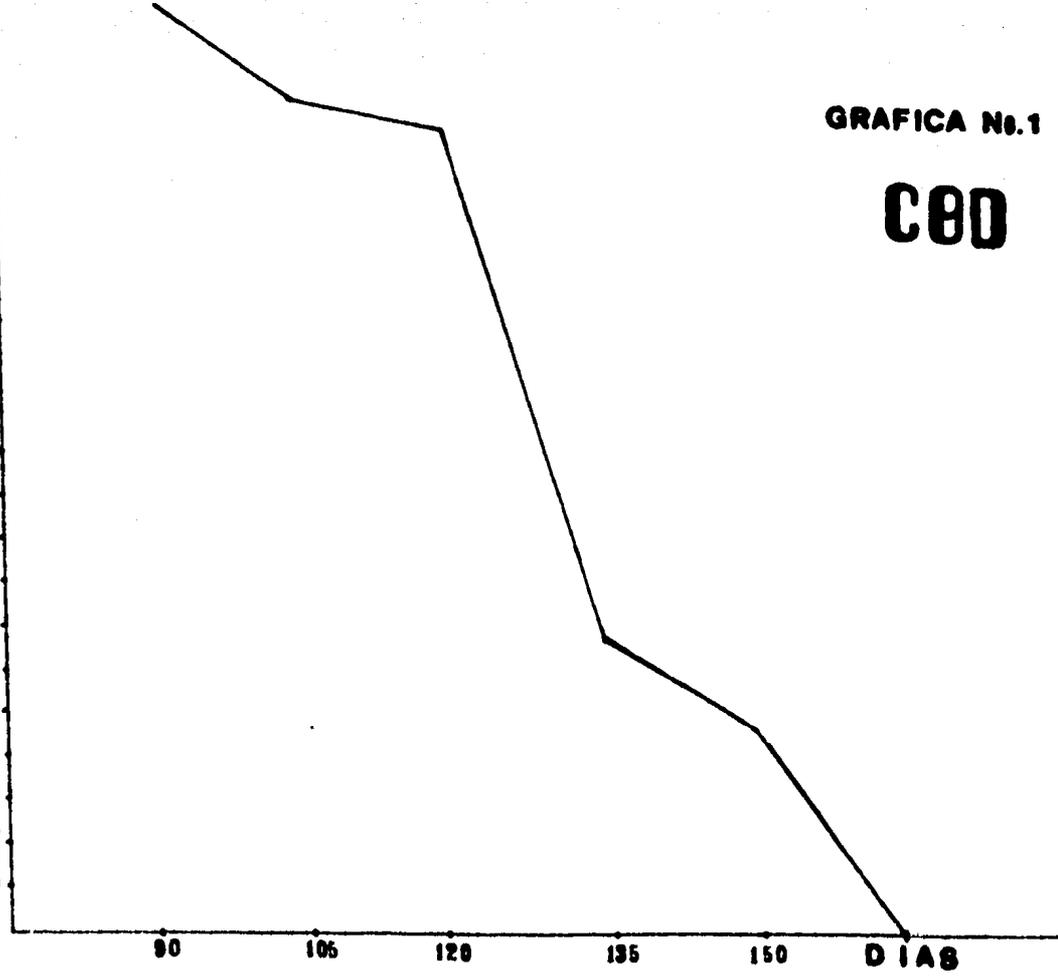


No.6 Cromatograma obtenido de la muestra de Marihuana con 165 días de desarrollo en la que se pueden observar los siguientes compuestos: A: Cannabidivarina; B: (THCV); D: (THC); E (CBN).

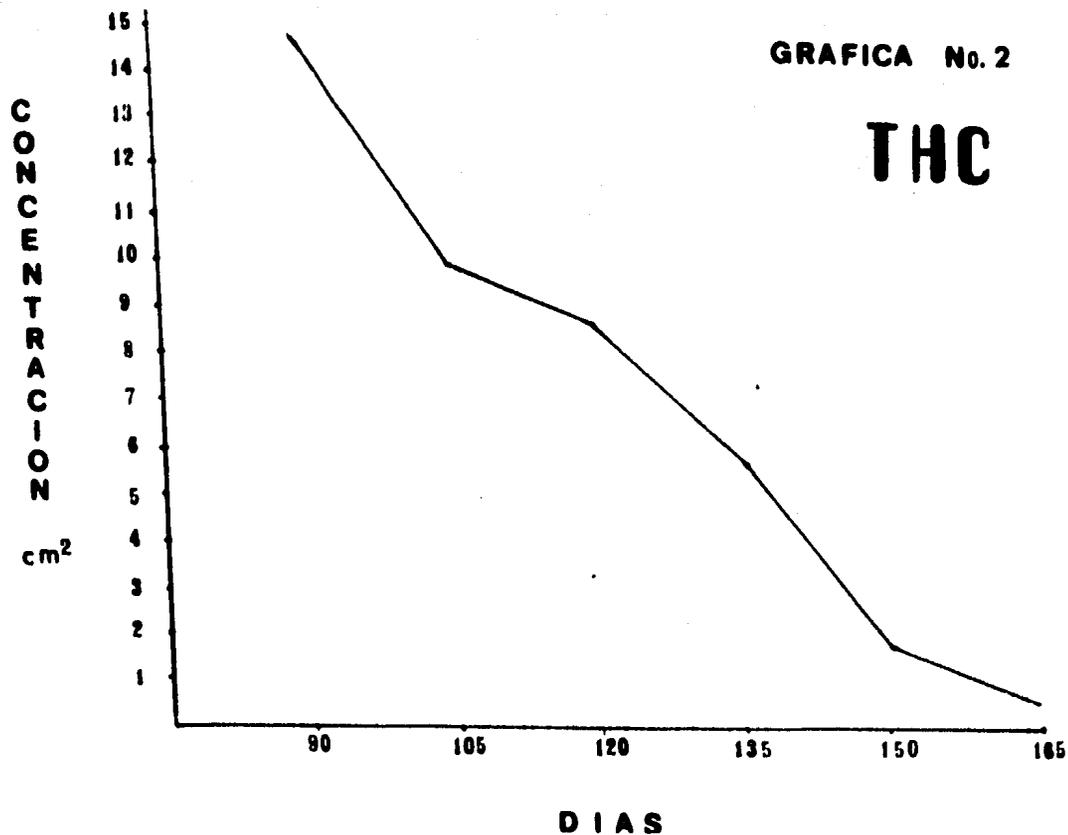
CONCENTRACION
cm²

GRAFICA No.1

CBD

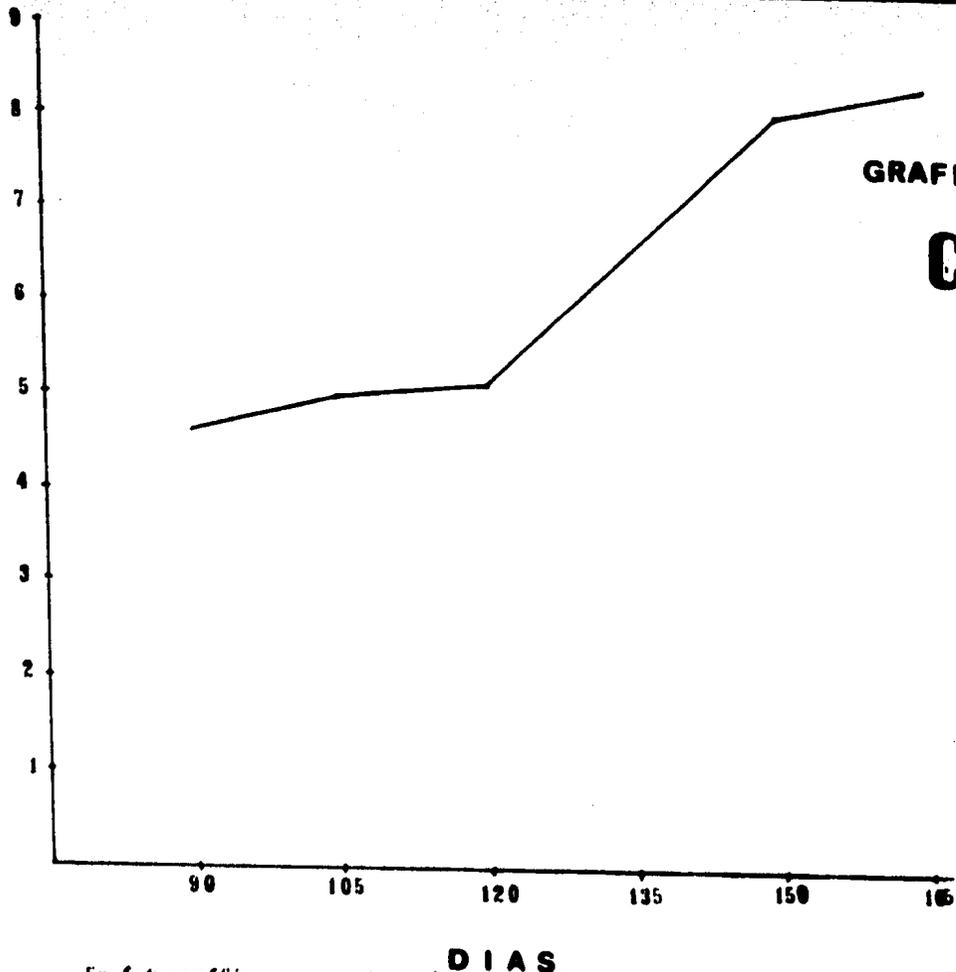


En ésta gráfica se muestra la disminución del CBD. Con relación al tiempo.



En ésta gráfica se muestra cómo disminuye la conc. de THC, con relación al tiempo.

CONCENTRACION
cm²



GRAFICA No. 3

CBN

DIAS

En ésta gráfica se muestra el aumento de la conc. de CBN con relación al tiempo.

VI.- DISCUSION Y CONCLUSIONES

En el presente trabajo se usaron varios métodos - que son los adecuados a seguir en todo análisis - químico de la planta de Cannabis sativa, determinando la presencia de cannabinoides el número de éstos, así como la concentración de THC, CBN y CBD, Fig. No. las condiciones de cultivo, la hora de cosecha, la edad de la planta, su tamaño, así como otras características morfológicas, como lo es el color de las hojas.

Todos éstos datos pueden ser útiles para estudios posteriores relacionados con Cannabis sativa.

De acuerdo con los resultados obtenidos por el método de reacciones colorimétricas se concluye que la reacción de Duquenois Levine, da positividad para todos los lotes, al igual que la reacción con azul sólido B; sin embargo para los lotes marcados con los números 5 y 6, la reacción es más lenta y la coloración considerada como resultado positivo es ligeramente más pálida. Lo que se atribuye a que del CBD y THC se localizan sólo trazas o está ausente, en las plantas que presentan síntomas de marchitamiento, y después de los 120 días de crecimiento, donde se va acentuando la coloración amarillenta de las hojas, conforme pasa el tiempo de desarrollo de la planta, y bajo las condiciones anteriormente señaladas.

2.- En todas las muestras se observan tricomas en la forma típica de "uña de gato", con la única diferencia, de que en las muestras "maduras" se encontraban más fragmentados y desprendidos de la epidermis de las hojas.

3.- Con el método de cromatografía en capa delgada, se obtiene una buena resolución utilizando el método reportado por Merkus en 1971 y con las modificaciones hechas a éste método se separaron mayor número de cannabinoides, ya que se evita la superposición de los últimos cannabinoides que se identifican en las placas (THC y CBN).

4.- Para la cuantificación del contenido de THC, CBN y CBD, el método recomendado es el de cromatografía en fase de vapor, debido a su alto grado de sensibilidad. Utilizando éste método; se concluye que en el lote no. 1, es decir en el de 90 días, se encuentra la concentración máxima de THC y existe la presencia de CBD y CBN en la resina obtenida de la planta, para el lote no. 2 de 105 días disminuye la concentración de THC y de CBD, aumentando la concentración de CBN y continúa en ésta proporción (Gráfica no. 2), hasta la planta de 165 días en donde encontramos la máxima concentración de CBN y la mínima de THC, y que desaparece el CBD.

De esto, podemos concluir, que la potencia de la droga vá disminuyendo conforme se vá marchitando la planta, hasta llegar a ser una planta inactiva.

5.- Finalmente se considera que usando la combinación de dos métodos como son la cromatografía en columna y cromatografía en capa delgada se pueden separar y purificar estos cannabinoides. Para comprobar que se había obtenido el THC puro, se comparó su espectro I.R. con el espectro I.R. del THC standard, obteniéndose la mayor parte de picos característicos iguales.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Asahina, H. (1957) "Studies on Cannabis obtained from hemp plants grow in Japan". - Bulletin on narcotics. IX, (4):17-20
- 2.- Assad, N.M., Doorembos, N.J. (1973) "Mississippi-grow Cannabis, cannabinoid and cannabinoid acid content" J. Pharm. Sci. (62):313 - 314
- 3.- Bailey, L.H. (1973) "Manual of Cultivated plants" The Macmillan Company. New York.
- 4.- Boletín de la oficina sanitaria Panamericana. (1972). "El uso Cannabis". LXXIV, (1):48 - 52
- 5.- Boletín de Estupefacientes de las Naciones Unidas. (1978) "Simposio sobre la mariguana". Reims (Francia). XXX, (13):23 - 32
- 6.- Cabral, L.E. (1973) "Sintomatología por una intoxicación por mariguana". Ciudad-Universitaria, México.
- 7.- Cannabis (1972) "A report of commission of inquiry into Non-Medical use of drugs". Ottawa. Information Canada. pp. 25 -46

- 8.- Doorembos, N.J., Fetterman, P., Quimby, M.W., and Turner, C.E. (1971) "Cultivation, extraction, and analysis of Cannabis sativa".
Annale of New York. Academic of -
Sci. (1971): 3 - 14
- 9.- Drake, B., (1978) "The cultivator's handbook - of marihuana".
Ed. Wingbow Press U.S.A.
- 10.- Editorial, (1967) "Gas chromatography of indian hemp (Cannabis sativa L.). J. Pharm. Pharmac. (19):851
- 11.- Familia de las Moras (Moreceae), (1969) "Cannabis sativa".
Bol de Estupefacientes XXI, (4):23 - 24
- 12.- Fairbair, J.W. and Lebman, J.S., (1973) "The extraction and estimation of the - Cannabis sativa, and its products".
- 13.- Fermilio, C.G., Mc. Connel, T. (1961) "Paper- and Gas chromatographic analysis of Cannabis".
J. Pharm. Pharmacol (25):150 - 155
- 14.- Fetterman, P., Doorembos, N.J. and Quimby. - (1971) "A simple Gas Liquid Chromatographic procedure for determination of cannabinolic acid in Cannabis sativa".
Separatum Experimenta. pp. 988 - - 990.

- 15.- Fetterman, P., and Turner, C.E. (1972) "Constituents of Cannabis sativa, propyl homologs of cannabinoids from Indian variant".
J. Pharm. Sci. (61):1476 - 1477
- 16.- Fetterman, P., Keith, E.S., Waller, C., Guerrero, O., Doorembos, N.J., and Quimby, M.N. (1971) "Mississippi grow Cannabis sativa preliminary observation of chemical definition of phenotype and variations in THC contents versus; age, sex, and plant part".
J. Pharm. Sci. (60):1246 - 1249
- 17.- Soinchi, H.K., Hiroyasu, M., Misao, K. (1971) "Variation in amount of narcotic components of Cannabis with growth". Hokkaidotitsu Esei Kenkyushoho, (21):180 - 190
- 18.- Garlic, L.J., (1964) "A comparative study on some chemical and biological characteristics of various samples of Cannabis resin". Bulletin on narcotics". XIV, (3):37 - 46
- 19.- Garlic, L.J., Touric, N. (1963) "Examination of Cannabis resin by means of ferric chloride test".
Experientia. XIX:267 - 269

- 20.- Garlic, L.J. (1961) "Peroxide-Sulphuric acid-test as an indication of the repressiveness and physiological activity of Cannabis resin". J. Pharm. Pharmac., (13):637 - 638
- 21.- Garlic, L.J. Andric, A. (1961) "The content of acid fraction in Cannabis resin of various age and provenance". Esperientia. XVII:325 - 326
- 22.- Gonzalez-Carrera A. (1973) "Drogas que producen dependencia"
Ed. Monte Avila, Caracas- Venezuela, pp. 92 - 105
- 23.- Informe de un grupo Científico de la Organización Mundial de la Salud (OMS). - (1971). "El uso de Cannabis"
Informe Técnico núm. 478. Ginebra.
- 24.- Kechetov, E.A. (1959) "Chemical and Biological evaluation of resin of hemp - grow for seed in central districts of the European part of the USSR". Bulletin on narcotics. IX, (4):5-9
- 25.- Lerner, P. (1969) "Determinación precisa del-tetrahidrocannabinol en la mariguana y el hachis".
Boletín de estupefacientes. XXI, - (3):55- 59
- 26.- Levine, J. (1944) "Origen of Cannabinol".
J. AM. Chem. Soc. (66):1868.

- 27.- Mechoulam, R., Shani, A. (1970) "Chemical bases of hashish activity".
Science, (169):611 - 612
- 28.- Medina Alegre, S.M. (1975) "Análisis cualitativo y cuantitativo de la resina de Cannabis sativa".
I. P. N. México.
- 29.- Medina, E.R., González, G.M. "Mariguana". La-
Revista Médica de Yucatán. (12): -
265 - 274
- 30.- Merkus, F.W. (1969). "Thin layer chromatography of Cannabis sativa constituents". Pharm Weekblad. pp. 44-45
- 31.- Merkus, F.W. (1970) "Cannabivarina and Tetrahydrocannabidivarina two new constituents of hashish". Nature (232):570
- 32.- Mole, L.M. and Turner, C.E. "Phytochemical screening of Cannabis".
J. Pharm. Sci. (63):54
- 33.- Nakamura, G.R. (1969) "Forensic aspects of cystolith hairs of Cannabis and other plants". J. of the A.O.A.C.-
(52):5 - 17
- 34.- Okamoto, T., and Watanabe, K. (1969) "Rapid-identification of Cannabis by means of Infra-red spectroscopy".
U.D.C. Mayo pp. 15 - 19

- 35.- Phocheu, R.C. (1973) "Un falso antídoto frente al rohook" del futuro". Médico-Moderno. pp. 38 - 50
- 36.- Reporte de trabajo de grupo, (1974) "The chemistry of Cannabis and its components". Unites Nations. Division - of Narcotic Drugs. Mayo pp. 17 --20
- 37.- Soichi, H.K., Hiroyasu, M., Misao y K. Takeshi, (1971) "Variation in the amount of narcotic components of Cannabis with growth". Hokkaidiritsu Eisei Kenkyshoho, (21):180 - 190
- 38.- Stearn, W.T. (1970) "The plant Botanical characteristic, in the botanical and-chemistry of Cannabis of Cannabis". Joyce C.R.B. and Curry S.H. ED. - pp. 1 - 10
- 39.- Sthel, E. (1973) "Drug analysis by chromatography and microscopy". Ann Arborcience Publishers Inc. - Michigan pp. 1 - 9
- 40.- Toffoli, F. (1968) "Methods of distinguishin-biologically active Cannabis and -fiber Cannabis". Boletfn de Estupe facientes XXI, (3):55 - 59

- 41.- Turner, C., Hadley, W. (1973) "Constituents - of Cannabis sativa. Clear and discrete separation of Cannabinol and cannabícromene". J. Pharm. Sci. - (62):1083 - 1086
- 42.- Turner, C., Hadley, W., Fetterman, P. Doorembos, N.J., Quimby, N. and Wallar, C. (1973) "Constituents of Cannabis sativa; stability of cannabinoids in stored plants material". J. Pharm. Sci. (62):1601 - 1604
- 43.- Turner, C. (1973) "Constituents of Cannabis sativa, propyl homologs in samples of know Geographical origin".
- 44.- Youngken, J.W. (1975) "Tratado de Farmacognosia". Traducción de la sexta edición inglesa por Francisco Giral.- Ed. Atlante pp. 352 - 357