



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

EXTRACCION DE MESCALINA Y SU IDENTIFICACION POR EL PROCEDIMIENTO DE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

157

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

BEATRIZ FLORES VELAZQUEZ

1976



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.

CLAS Tesis
AÑO 1976
FECHA _____
PROC Mt

158



QUIN 61

A MI MADRE Y ABUELOS

A MIS HERMANOS,
con cariño.

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

AL CENTRO MEXICANO DE ESTUDIOS

EN FARMACODEPENDENCIA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE	PROF. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA
VOCAL	PROFRA. ETELVINA MEDRANO DE JAIMES
SECRETARIO	PROF. ENRIQUE CALDERON GARCIA
1er. SUPLENTE	PROF. CESAR A. DOMINGUEZ CAMACHO
2do. SUPLENTE	PROFRA. ANA MARIA MENDEZ CHAVEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

PROCURADURIA GENERAL DE LA REPUBLICA

SUSTENTANTE:

BEATRIZ FLORES VELAZQUEZ

ASESOR:

Q.F.B. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA

I N D I C E

- 1.- INTRODUCCION
- 2.- GENERALIDADES SOBRE EL PEYOTE
- 3.- GENERALIDADES SOBRE LA MESCALINA
- 4.- PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION DE LA MESCALINA
- 5.- PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACION DE LA MESCALINA
- 6.- RESULTADOS
- 7.- CONCLUSIONES
- 8.- BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION.-

El objeto de la presente tésis, es el de aislar e identificar por el método de Cromatografía en Capa Fina el alcaloide llamado mescalina (3,4,5 Trimetoxifeniletamina) a partir del cacto *Lophophora Williamsii* (peyote).

Cromatografía, es el nombre dado a una familia de técnicas de separación cuyo rasgo común es el uso de dos fases (una estacionaria y otra móvil) y del movimiento relativo de ambas depende dicha separación. Debido al gran auge que en la década de los cincuenta se le diera a la Cromatografía en Capa Fina, es que ésta pudo ser aplicada a una gran variedad de separaciones, posteriormente se observó la necesidad de usar esta técnica en especial, debido a las ventajas que presentaba (uso de pequeñas cantidades de muestra, facilidad en la identificación de la mancha, rapidez, recuperación de la muestra).

Actualmente existe un incremento notable en el porcentaje de población que usa e incluso abusa de los estupefacientes y substancias consideradas de naturaleza análoga, ha aumentado también y en forma notable el cultivo, fabricación y tráfico de dichas substancias, es por esto que el estudio presente a continuación, es una aportación a los llamados estupefacientes, para la identificación de la dro-

ga mescalina, cuyos efectos no son únicamente negativos, si no que últimamente ha sido objeto de numerosos estudios para aprovecharla favorablemente tanto en el campo de la medicina como en el de la industria.

HISTORIA Y DESCRIPCION.-

Los primeros reportes en la literatura sobre los efectos alucinantes del peyote, han sido escritos por cronistas venidos a México, durante la Conquista, el primero de ellos fue Sahagún de la Serna en 1626, quien lo distinguió de otros cactus, en 1638 Hernández, naturalista de Felipe II de España, efectuó la primera descripción botánica bajo la rúbrica de "De Peyotl Zacatensi" en 1754 Ortega mencionó al peyote como elemento esencial usado en una danza cora.

Desde 1845 el peyote ha tenido numerosas designaciones, tales como: *Echinocactus Williamsii* (Lem), *Anhalonium Williamsii* (Lem) *Mammillaria Williamsii* (Coulter), *Echinocactus Lewinii* (Hemings), *Mammillaria Lewinii* (Karsten), -- *Lophophora Lewinii* (Thompson), pero a la fecha se le conoce como *Lophophora Williamsii* (Lem); su nombre vulgar es Peyote que deriva de la palabra de origen azteca "Peyotl", éste es un curioso y pequeño cacto, desprovisto de espinas, ramas y hojas; alrededor de su superficie (la cual apenas sobresale de la tierra), está dividida radialmente por una especie de espiral ligeramente perceptible que en algunos especímenes tiende a ser tan complejo que llega a perder su natural apariencia. Esta espiral soporta un pequeño penacho o macizo de color grisáceo, es por ésto que dicho cacto

toma la designación moderna y botánica de *Lophophora* (soportar penachos) y el nombre azteca "Peyotl" (por su semejanza con un capullo del gusano de seda). En el centro de esta superficie se encuentra una pequeña mancha aterciopelada de la cual derivan y crecen las espirales anteriores; la flor color de rosa soportada sobre un tallo crece a partir de esta mancha, en forma rápida tomando posteriormente el color del fruto.

Para su cosecha la parte de la planta que sobresale de la tierra es cortada y dejada secar al sol, es lo que constituye el botón de mezcal el cual se conserva por mucho tiempo.

Hasta finales de 1800 el peyote fue material de consumo para algunas tribus con fines medicinales y para inducir visiones, pero a consecuencia de los movimientos indígenas de Norte América a principios de este siglo, su uso ha sido extendido a más de cuarenta tribus (Mescalero-Apaches, Kiowas y Chomanches).

CLASIFICACION. -

La familia Cactaceae comprende 3,000 especies de cactos que crecen frecuentemente en las regiones Norte, Centro y Sur de América y en las Indias Orientales. Debido a la hibridización de cactos, se ha inducido a una gran variedad morfológica que muchas veces es causa de complicaciones en sus designaciones desde el punto de vista taxonómico.

Para evitar estas confusiones voy a enunciar brevemente ciertos cactos que en México se les da también el nombre vulgar de Peyote debido a sus propiedades psicoactivas semejantes a *Lophophora Williamsii*:

1.- *Ariocarpus fissuratus*, usado como narcótico por los indios tarahumaras, *A. retusus*, descrito en la literatura como falso peyote y conocido así por los huicholes, tiene efectos psicológicos indeseables, *A. agavoides*, la más reciente especie de este género encontrada y originaria de Tula, Tamaulipas, comúnmente llamada Magueyitos, contiene como principal alcaloide a la hordenina, la cual también se encuentra en *Lophophora Williamsii*.

2.- *Mammillaria heyderi*, popularmente llamada biznaga de chilitos o chilito usada en ceremonias religiosas y para la cura del dolor de cabeza, su principal alcaloide es la N-metil-3,4-dimetoxifeniletilamina.

3.- *Obregonia denegri*, semejante a *Ariocarpus* sp. en muchos aspectos, no se le conoce nombre vulgar-específico, unos le llaman obregonia, otros peyote. De ella se aisló la tiramina, N.-metiltiramina y la hordenina. El extracto de este cacto tiene cierta actividad antibiótica.

4.- *Pelecyphora aselliformis* (Ehrenberg); también conocido como peyote, peote, peyotillo, peotillo, piote, peyote meco; es usado con fines medicinales, para dolores reumáticos.

De este cacto se han aislado: anhalidina, hordenina, peyotina, N,N-dimetil-3-hidroxi-4-5-dimetoxifeniletiramina, encontrándose éste último en mayor cantidad. En la fracción no fenólica del alcaloide se identificaron trazas de mescalina, N.-metilamina, 3,4,-dimetoxifeniletilamina y N-metil -3,4- dimetoxifeniletilamina. La hordenina -- presente en este cacto, al igual que en *Lophophora William-sii* explica la actividad antibiótica encontrada en extractos de *Pelecyphora aselliformis*.

5.- *Pelecyphora pseudopectinata* (Backeberg), conocido en Tamaulipas como peyote, estudios recientes han encontrado como principal alcaloide a la hordenina.

6.- *Solisia pectinata*, peyotillo o cochinito como se le conoce en Tecamachalco, Puebla. Se identificaron los alcaloides: Hordenina y N-metil tiramina, no se le ha repor

tado ningún uso de este cacto.

7.- *Turbinacurpus pseudomacrochele* (Backerberg), - cacto originario de las colinas de Querétaro conocido como peyote y peyotillo, el único alcaloide que se le ha podido detectar es la hordenina.

Se puede decir que no existe ninguna relación lógica entre el nombre peyote y el contenido de alcaloides identificados, en los cactos anteriormente mencionados, una posible excepción es *Pelecyphora aselliformis* que es el más próximo a *Lophophora Williamsii* debido a la similitud de alcaloides presentes.

La clasificación botánica de *Lophophora Williamsii*, propiamente hablando, es la siguiente:

División:	Embryophita	siphonogama
Subdivisión:	Angiospermae	
Clase:	Dicotyledoneae	
Serie:	Opuntiales	
Familia:	Cactaceae	
Tribu:	Cereas	
Subtribu:	Equinocactaceae	
Género:	Lophophora	
Especie:	Williamsii	(Lemaire-Coulter)

GENERALIDADES SOBRE LA MESCALINA.-

Fue en 1886 cuando el farmacólogo alemán Ludwig Lewin publicó el primer estudio sistemático del cacto, al que se dio luego el nombre del propio investigador Anhalonium Lewini, nuevo para la ciencia, pero para la religión primitiva y los indios de México y del Sudoeste de los Estados Unidos, era un amigo de tiempo inmemorial; era en realidad mucho más que un amigo. Según uno de los primeros visitantes españoles del Nuevo Mundo, esos indios "comen una raíz que llaman Peyotl", y a la que veneran como a una deidad.

La razón de tal veneración quedó de manifiesto cuando psicólogos tan eminentes como Jaensch, Havelock Ellis y Weir Mitchell iniciaron sus experimentos con la mescalina, el principio activo del Peyotl, todos ellos coincidieron en asignar a la mescalina un puesto entre las drogas más distinguidas. Administrada en dosis adecuadas, cambiaba la cualidad de la conciencia más profunda (siendo al mismo tiempo menos tóxica) que cualquier otra sustancia de la farmacología.

La investigación sobre la mescalina ha continuado de modo intermitente desde los días de Lewin y Havelock Ellis. Los químicos no se han limitado a aislar el alcaloide, han aprendido también a sintetizarlo, en forma que las

existencias no dependan ya de las dispersas e intermitentes entregas de un cacto del desierto.

Los alienistas se han dosificado a sí mismos con mescalina, movidos por la esperanza de llegar a una comprensión mejor y directa con los procesos mentales de sus pacientes. Neurólogos y fisiólogos han averiguado algo acerca de cómo actúa sobre el sistema nervioso central; y aún los filósofos han tomado mescalina para ver qué luz arroja sobre ciertos viejos enigmas no resueltos aún, tales como la relación entre el cerebro y la conciencia.

Las cosas quedaron así hasta que en 1955, se observó un hecho nuevo y significativo, se advirtió de la estrecha semejanza que existe en composición química, entre la mescalina y la adrenalina. Ulteriores investigaciones revelaron que el ácido lisérgico, un alucinógeno muy poderoso que se obtiene del cornezuelo del centeno, tiene con ambas una relación bioquímica estructural. Luego vino el descubrimiento de que el adrenocromo, que es un producto de la descomposición de la adrenalina, puede producir muchos de los síntomas observados en la intoxicación con mescalina. Pero el adrenocromo se produce probablemente de modo espontáneo en el cuerpo humano, en otros términos, cada uno de nosotros es capaz de producir una substancia química que administrada en dosis pequeñas causa profundos cambios en la

conducta, algunos de estos son análogos a los que se manifiestan en la plaga más característica del Siglo XX, la esquizofrenia.

Otro descubrimiento importante, es que la mescalina impide la producción de enzimas reguladoras del suministro de glucosa a las células cerebrales, disminuyendo de esta forma la cantidad de glucosa a disposición de un órgano que tiene una constante necesidad de azúcar. Las alteraciones que ésta trae como consecuencia son:

Que la capacidad de recordar y de pensar bien, queda poco o nada disminuída, las impresiones visuales se intensifican mucho y el ojo recobra parte de esa inocencia perceptiva de la infancia, el interés por el espacio disminuye y el interés por el tiempo casi se reduce a cero, aunque la percepción mejora muchísimo, la voluntad experimenta un cambio profundo, quien toma mescalina no ve razón alguna para hacer nada determinado y juzga carente de todo interés la mayoría de las causas por las que en tiempos ordinarios estaría dispuesto a actuar, no puede molestarse en ellas por la sencilla razón de que tiene cosas mejores en qué pensar.

La mescalina procura a todos los colores un mayor poder y hace que el perceptor advierta innumerables finos matices para los que en tiempos ordinarios es completamente

ciego.

La mayoría de los tomadores de mescalina, experimentan únicamente la parte "celestial" de la esquizofrenia, por así llamarla; la droga sólo procura "infierno" a quienes han padecido recientemente una ictericia o son víctimas de depresiones periódicas o ansiedad crónica. Pero la persona razonablemente sana sabe por adelantado que la mescalina es casi inocua, que sus efectos pasan al cabo de ocho o diez horas, sin dejar rastros y por consiguiente, deseos de renovar la dosis.

El esquizofrénico es un "alma", no solamente no regenerada, sino además desesperadamente enferma, su enfermedad consiste en su incapacidad para escapar de la realidad interior y exterior y refugiarse en el mundo estrictamente humano de las nociones útiles, es una persona que reclama las más desesperadas reacciones desde la violencia asesina, hasta la catatonía o suicidio psicológico, en una palabra es como una persona que está permanentemente bajo la influencia de la mescalina.

En contraste con el alcohol, la mescalina no lleva a quien la toma, a esa especie de acción sin trabas que se traduce en riñas, crímenes de violencia y accidentes de tránsito. Un hombre bajo su influencia se dedica tranquilamente a sus propios asuntos.

De las consecuencias a la larga para quien la toma regularmente sabemos poco; los indios que consumen capullos de peyotl no parecen física o moralmente degradados -- por el hábito, se sabe de muchas personas que han sido peyotlistas durante cuarenta o cincuenta años y no tienen dependencia, hay a veces intervalos de un mes o más en los cuales no toman peyotl, ni sienten deseos de él.

BIOSINTESIS.-

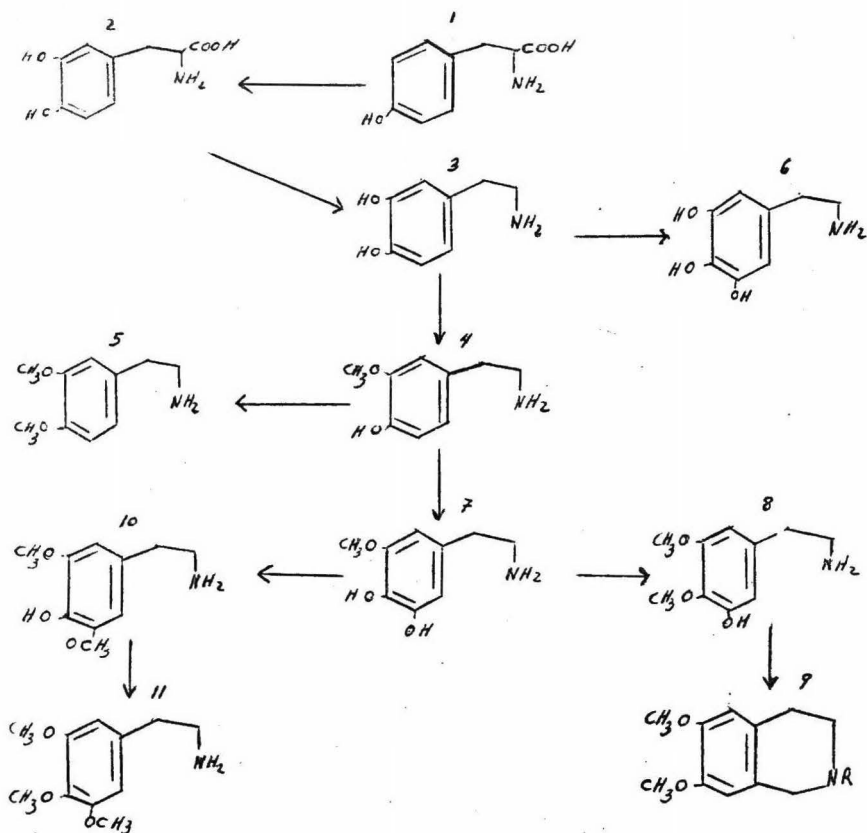
A fines del siglo pasado se encontró que el cacto *Lophophora Williamsii* contenía, entre otros, un alcaloide - responsable de su actividad alucinante, la mescalina; su estructura química fue determinada en 1919 por Späth como la 3, 4, 5 -Trimetoxifeniletilamina.

La biosíntesis de la mescalina y de los alcaloides tetrahidroisoquinolínicos en el cacto del peyote ha sido investigada mediante el uso de precursores radioactivos. Según los datos que a la fecha se tienen sabemos que la mescalina, anhalamina, anhalonidina y peyotina, tienen una ruta común de biosíntesis.

La formación de la mescalina se inicia con el aminoácido tirosina (1) vía dopa (2) - dopamina (3) ésta se encuentra tanto en *Lophophora Williamsii* como en *Trichocereus pachanoi* y es metilado en posición orto para dar la 4-hidroximetoxifeniletilamina (4) que a su vez sufre el mismo proceso anterior para formar la 3, 4, dimetoxifeniletilamina (5).

La incorporación de la 3, 4, 5, Trihidroxifeniletilamina (6) junto con el compuesto número (4) nos indican -- las alternativas que pueden existir para la incorporación -- del grupo hidróxido en la posición número cinco para formar el 3, 4-dihidroxi -5metoxifeniletilamina (7).

La incorporación de aminoácidos y derivados feniletilaminados dentro de los alcaloides Tetrahydroisoquinolínicos son semejantes hasta el compuesto número (7), pues éste es metilado para tener el 3-hidroxi-4,5, dimetoxifeniletilamina (8) que sufre una ciclización para dar lugar a la formación de peyotina, anhalamina y anhalonidina (9) o puede ser metilado para dar lugar a la mescalina (11) por intermedio del compuesto 4-hidroxi-3,5-dimetoxifeniletilamina (10).



IDENTIFICACION QUIMICA.-

Es necesario identificarlos en primer término como alcaloides y una reacción de orientación para tal propósito es la solución de Lugol cuya preparación es la siguiente:

Iodo	50 gr.
Ioduro de Potasio	100 gr.
Agua destilada	1,000 ml.

A una pequeña cantidad de substancia sospechosa, se le agrega un poco de la solución anterior que en presencia de alcaloide va a producir un precipitado café, el cual es soluble en alcohol.

Para la identificación química de la mescalina en especial existe la reacción de Wagner's, cuyo reactivo lleva:

Iodo	1.27 gr.
Agua destilada	100 ml.
Ioduro de Potasio	2.75 gr.

Es conveniente que la muestra sospechosa se diluya en ácido clorhídrico 3 N. La reacción positiva es la -- formación de un precipitado cristalino.

Reacción del nitrato de sodio, que es común tanto para mescalina como para otros alcaloides de *Lophophora* - - *Williamsii* consiste en agregar nitrato de sodio a una disolución de la muestra problema con ácido sulfúrico concentrado, el resultado positivo es la aparición de una coloración violeta que pronto pasa a parda.

Reacción con ácido pícrico, en la cual se prepara una solución saturada de éste en la siguiente forma:

Acido pícrico	13 gr.
Agua destilada	800 ml.

Se calienta esta solución hasta la disolución completa para aforar a 1,000 ml.

A una muestra en solución se le agrega en forma proporcional la solución de ácido pícrico. El resultado se observa al microscopio en donde se ve la formación de agujas finas agrupadas en manojos.

ACCION FARMACOLOGICA SOBRE EL ORGANISMO HUMANO.-

Las drogas psicomiméticas poseen acciones psíquicas y motoras, a este tipo pertenece la mescalina, que una vez administrada al hombre, en un período latente de 20 a 30 minutos por vía bucal o de 10 a 15 minutos vía intramuscular, comienza una fase de excitación psíquica, precedida o coincidente con manifestaciones autonómicas (taquicardia, midriasis, salivación), se producen alucinaciones especialmente visuales y no menos frecuentes las auditivas en forma de imágenes de extraordinaria viveza y colorido generalmente de naturaleza cinética.

Lo que llama la atención es el trastorno transitorio de la personalidad que se produce a continuación de las alucinaciones y que corresponde a la despersonalización del individuo, se trata de un estado afín a la esquizofrenia, lo que justifica la aseveración de que esta droga procura una psicosis experimental o psicosis modelo; en algunos aspectos estos cambios son similares a los que causa el ácido dietilenamino Lisérgico.

Durante el envenamiento con mescalina, se ha observado delirio semejante al que produce la marihuana, sólo que acompañado de alucinaciones; produce relajamiento muscular, dilatación de la pupila, pérdida de la noción del tiempo y la distancia, prevaleciendo en un estado de analgesia

y depresión circulatoria. Este alcaloide deprime progresivamente el sistema nervioso, sistema circulatorio y respiratorio, presentándose en las dos primeras horas de envenenamiento, náuseas, viene posteriormente el efecto principal que es el de cuadros y visiones notablemente coloridas y pérdida casi total de los sentidos del gusto y el olfato, la muerte por ingestión de mescalina sobreviene después de la parálisis respiratoria.

La mescalina en el cuerpo humano tiene acción antagónica con la adrenalina, puesto que ésta estimula la respiración y aumenta la presión arterial.

La acción de la mescalina principia a los 30 minutos de haber sido inyectada intramuscularmente o ingerida y su efecto dura de 10 a 19 horas según dosis suministrada.

Es excretada por la orina en forma de ácido trimetoxifenilacético (3,4,5 (Me O)₃C₆H₂CH₂COOH).

Su acción es más poderosa sobre personas normales que sobre personas esquizofrénicas. La dosis para personas sanas es de 5.0 a 7.0 mg. por kilogramo de peso, apareciendo los síntomas después de la primera hora.

Usos: Agregando un gramo de sulfato de mescalina por litro de revelador para películas de color, origina que éste sea más firme y permanente, además disminuye a la mitad el tiempo de revelado. En las películas blanco y negro

produce un negativo de grano más fino obteniéndose más contraste y detalle en el positivo.

También es usada en los procesos de neurastenia - histérica, esquizofrenia y en algunos casos de asma.

PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION DE LA MESCALINA.-

La propiedad química más característica de los alcaloides es su basicidad, por lo que los métodos para aislarlos, purificarlos e identificarlos, por lo general aprovechan esta propiedad.

Aunque muchos alcaloides pueden extraerse con disolventes neutros, como alcoholes y cloroformo, es frecuente extraerlos con soluciones de ácidos en agua, con lo cual se separan los alcaloides y sus sales. En algunos casos el material a tratar se desengrasa con éter de petróleo o benceno, se alcaliniza con hidróxido de calcio o hidróxido de amonio y después se extrae con disolventes orgánicos, tales como: cloroformo, benceno, cloruro de metileno, éter etílico, etc. de estos disolventes se pasa el alcaloide a una fase de agua acidulada de donde se precipita con álcali y se vuelve a pasar a la fase orgánica. Los alcaloides contenidos en esta última fase pueden separarse por métodos particulares como cromatografía, intercambio iónico, cristalización fraccionada.

En el caso especial que estoy tratando, la mescalina se extrajo moliendo una porción de peyote adicionándole pequeñas cantidades de agua destilada, cuando el líquido extraído tiene un color verde chicharo intenso, se filtra en papel Wathman para eliminar residuos vegetales, acto seguido

el filtrado se vacía a un embudo de separación adicionándole cualquiera de los disolventes en los cuales es soluble la -- mescalina, en particular se usó alcohol etílico, pues con -- agua, cloroformo y benceno que disuelven también este alca-- loide, la extracción era muy deficiente.

La adición de alcohol etílico fue en proporción -- equivalente al extracto y se empieza a agitar en forma enér-- gica teniendo la precaución de dejar escapar los vapores pro ducidos dentro del embudo de separación al momento de agitar, posteriormente se dejan separar ambas fases (acuosa y orgánica), se extrae la fase orgánica y con la acuosa se repite el procedimiento anterior hasta completar tres extracciones.

Para comprobar que el extracto contiene efectiva-- mente alcaloides se llevó a cabo su identificación en cápsu-- la de porcelana o tubo de ensayo tomando una alicuota de la _ muestra y llevándola a sequedad, se le adiciona agua destilada a modo de disolver la muestra más dos gotas de solución - de Lugol, el resultado positivo es la formación de un preci-- pitado color ladrillo. Se puede también efectuar cualquiera de las reacciones específicas para mescalina tratadas en el _ capítulo anterior para su identificación. El extracto se -- guarda en refrigeración perfectamente tapado hasta el momen-- to de su uso.

PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACION DE LA MESCALINA.-

La idea de usar un adsorbente cromatográfico en forma de una capa delgada fija en un soporte rígido fue propuesta por primera vez en 1938 por Izmailov y Shraiber; en 1951 Kircher, Miller y Keller reportaron la separación de terpenos en una tira cromatográfica preparada cubriendo una pequeña tira de vidrio con un adsorbente, almidón, el cual actuó como adherente. Estas tiras fueron manejadas en la misma forma que el papel en la cromatografía en papel, e indudablemente el objeto original de la técnica de capa delgada era aplicar los métodos de la cromatografía de partición en papel a un sistema de adsorción.

Pasaron varios años antes de que el método se generalizara, probablemente debido a que al mismo tiempo se desarrollaban rápidamente las técnicas de cromatografía de gases y en papel. Sin embargo, Stahl diseñó métodos convenientes para la preparación de placas y demostró que la cromatografía en capa fina podía ser aplicada a una gran variedad de separaciones. El introdujo una medida de estandarización y desde la publicación de su trabajo y la aparición de aparatos comerciales basados en diseños, muchos investigadores adoptaron el método.

Como ocurre frecuentemente, una vez dado el impulso inicial, se han producido muchas variaciones del procedi

miento y usos de la cromatografía en capa fina, tan rápidamente que en la actualidad es probable que sea más popular que la cromatografía en papel. En muchos campos la ha desplazado porque es más rápida y da mejores separaciones.

Descripción del método: Primeramente es necesario preparar las placas cromatográficas (cromatoplas), aplicando el adsorbente en forma de una película delgada de igual espesor sobre un soporte firme; generalmente se usan placas de vidrio. La extensión de la película se puede hacer por medio de un aplicador comercial, por simple destreza manual o por inmersión en la suspensión del adsorbente. La placa aplicada es secada y activada por calentamiento a 100°C por un período predeterminado.

Se aplica una solución de la muestra problema en un disolvente orgánico, ya sea con una pipeta, una jeringa o un capilar. Cuando la gota se ha secado, la placa se coloca verticalmente en un tanque apropiado, con la parte baja de la placa sumergida en la fase móvil seleccionada, obteniéndose así una separación cromatográfica ascendente. Al terminar de correr la placa se deja evaporar el disolvente de la placa y las manchas separadas son localizadas e identificadas por métodos físicos y químicos.

Tipos de adsorbentes usados: Dos importantes propiedades de los adsorbentes son su tamaño de partícula y su

homogeneidad, porque su adhesión al soporte dependen grandemente de éstos, un material de grano grueso no producirá -- una capa delgada satisfactoria y una de las razones de la mejor resolución de esta técnica es el uso de estos adsorventes de grano fino que produce una velocidad de flujo mayor.

Entre los adsorventes más conocidos son: alúmina, Kieselguhr, celita, celulosa (polvo), celulosa intercambiadora de iones, almidón poliamida (polvo), sephadex; pero el adsorbente más comúnmente usado es la silica gel, la cual puede ser preparada, sin embargo, es muy laborioso preparar estegel y los materiales comerciales en la mayoría de los casos dan resultados enteramente satisfactorios.

En ciertos casos reportados en placas de sílica gel se ha usado un adherente para dar una mayor fuerza mecánica a la capa, así como una mayor adhesión al vidrio de soporte. El adherente más frecuentemente usado es el sulfato de calcio (yeso), el cual se encuentra íntimamente mezclado con la sílica gel en una proporción del 10% en peso. Es importante que el adherente y la sílica gel se homogenicen -- perfectamente de modo que la capa sea absolutamente pareja, por lo que se recomienda usar sílica gel ya mezclada con el adherente, mejor que hacer uno mismo la mezcla.

Preparación de las placas: Por extendido.- El mé

todo original era utilizando una espátula, se puede hacer también uso de una regla que se hace correr por medio de dos varillas que sobresalen ligeramente del espesor de la placa en tal forma que distribuyen la masa uniformemente.

Por vaciado.- Este método no requiere de ningún aparato, únicamente se requiere de cierta destreza manual para hacer que la masa se distribuya homogéneamente en la superficie de la placa, este procedimiento es particularmente sencillo con algunos tipos de alúmina.

Por rociado.- Se han publicado los métodos detallados para hacer cromatoplasmas por rociado, sin embargo, no se ve una especial ventaja en la aplicación de este procedimiento y sí se han objetado debido a que por rociado es difícil obtener una capa pareja y no se puede asegurar la reproducibilidad de un determinado espesor.

Por inmersión.- Placas pequeñas como por ejemplo portaobjetos para microscopio, pueden ser aplicados sumergiéndolos en una papilla del adsorbente en cloroformo u otro disolvente volátil. Aquí tampoco se podrá conocer el espesor de la capa y la regularidad de la misma puede ser no muy buena, pero es el método más conveniente para hacer placas de separaciones cualitativas rápidas.

Fase móvil.- Siempre es preferible elegir el disolvente o la mezcla de los mismos, de la menor polaridad po

sible con la que se pueda obtener una buena separación. -- Una razón para hacer esto es la de minimizar la adsorción de algunos de los componentes de la mezcla; si se incluyen disolventes muy polares (particularmente el agua) en la mezcla, podrá ser tomado en suficiente cantidad como para convertir al sistema en uno de partición. Generalmente es conveniente evitar esto, aunque en ciertos casos se puede obtener una separación mejor.

Para seleccionar el disolvente, se puede recurrir a las series eluotrópicas, mezclas apropiadas dan fases móviles de poder eluyente intermedio; siempre es recomendable evitar mezclas de más de dos componentes cuando sea posible, principalmente porque las mezclas más complejas sufren fácilmente cambios de fase con el cambio de temperatura. La pureza de los disolventes es sumamente importante en esta técnica, ya que las cantidades de material que se emplean son sumamente pequeñas.

Aplicación de muestras: Las muestras se aplican con un capilar sobre la línea base, dejando evaporar el disolvente. La evaporación en la capa delgada es tan rápida que no es necesario el empleo de un secador de pelo u otro aparato similar.

Pueden aplicarse varias gotas sobre la misma mancha, dejando evaporar el disolvente entre cada aplicación.-

El volumen de muestra suele ser un microlitro; si se desea medir exactamente la cantidad aplicada se emplean micropipetas o tubos capilares de precisión.

La pipeta de rayado utilizada para trazar una línea muestra sobre los cromatogramas de papel, sólo puede emplearse para capas delgadas con alta resistencia a la abrasión.

La solución problema también se puede aplicar mediante una microjeringa con su émbolo. El émbolo se coloca en un rail descendente, de tal manera que cuando se corre la jeringa a lo largo; del rail, éste ejerce presión hacia el interior, proyectándose un chorro constante de líquido; de esta forma es posible aplicar una línea estrecha uniforme de la muestra a lo largo de la placa. Debido a que la aguja de la jeringa no toca la placa, no existe peligro de daño sobre la misma.

Desarrollo de las placas: El desarrollo se lleva a cabo en cubetas (tanques) por el método ascendente, si se desea desarrollar más de una placa a la vez, se introducen dentro de una gradilla especial. En el interior del tanque debe colocarse un papel filtro empapado de disolvente, que cubra las paredes interiores del mismo, para conseguir que la atmósfera esté saturada de vapor del disolvente. El fondo del tanque se cubre de disolvente hasta una altura de --

0.5 a 1.0 cm. y después de un período apropiado, en el que se consigue el equilibrio, se introduce la placa. Durante el desarrollo no puede moverse el tanque.

Cuando se emplea como eluyente un disolvente sencillo, tiene muy poca influencia el tamaño y la forma del tanque, pero con mezclas de disolventes y tanques grandes existe el peligro de que el disolvente, en equilibrio en un volumen relativamente grande de vapor, sea distinto al que se puso inicialmente. Un método para eliminar este inconveniente es el empleo de unos tanques especiales de tamaño pequeño, conocidos con el nombre de Tanques Sandwich.

En los tanques sandwich la propia placa forma una de las paredes, otra placa del mismo tamaño y un cartón espaciador, o una placa tapadera con los lados de vidrio soldados, completan el tanque. Las paredes se unen firmemente mediante abrazaderas o pinzas especiales. Una vez preparado el tanque se introduce en un recipiente que contiene el disolvente, requiriéndose muy poca cantidad del mismo, lo que es una gran ventaja.

Por lo general, cuando se desarrolla una placa se deja que ascienda unos 10 centímetros por encima del origen y se saca la placa. El frente del disolvente se marca cuidadosamente con un lápiz puntiagudo y se deja evaporar, operación que dura unos pocos minutos. Si es necesario, se ca

lenta la placa, estando lista para el revelado.

Localización de la mancha: Entre los procedimientos para revelar las placas está el método de bañado que no es muy recomendable ya que las placas se estropean fácilmente.

Otro método es el revelado con agentes corrosivos, tales como los ácidos concentrados y compuestos fuertemente oxidantes, a alta temperatura, debido a la naturaleza inorgánica de la capa.

Otro reactivo muy empleado son los vapores de yodo en un frasco que contiene en el fondo unos pocos cristallitos de yodo, se introduce el cromatograma y se deja durante unos minutos. El yodo tiende a concentrarse en los sitios donde están los compuestos, por lo que aparece una mancha colorida, que puede ser desde amarilla pálida hasta marrón obscura. En tanto que no reaccione el yodo con las sustancias; el método es extraordinariamente bueno como revelador no destructivo.

Otros métodos que no afectan a los compuestos en el revelado son la fluorescencia y la radiactividad. Muchas placas llevan sustancias fluorescentes como aditivos para el revelado de los compuestos, localizándose los mismos por la aparición de manchas no fluorescentes.

Además, muchas veces los compuestos a separar ab--

sorven en el ultravioleta, siendo este método el más sencillo para localizarlos.

Valor del RF.- Los valores del RF son de menor valor que en cromatografía en papel, debido a que hay una serie de factores que influyen en el comportamiento cromatográfico; los factores que operan en la cromatografía en capa fina son: la naturaleza del adsorbente, la fase móvil, la actividad del adsorbente, el espesor de la capa, la temperatura, equilibrio entre la mezcla del disolvente y cantidad de muestra aplicada.

Parte experimental.- Con el extracto de la mesalina, cuya técnica se explico en el capítulo anterior, se procede a identificarla de la manera siguiente:

1.- El adsorbente que usé fue cromatofolio PL de Silcagel F254 para cromatografía en capa fina de espesor de capa 0.25 mm. y dimensiones 7.5 cm. de largo por 2.5 cm. de ancho.

2.- La fase móvil con la cual encontré una separación mejor fue la mezcla de los siguientes disolventes en las proporciones mencionadas:

Alcohol etílico	0.7 ml.
Dioxano	0.5 ml.
Benceno	0.35 ml.
Hidróxido de amonio	0.45 ml.

3.- La muestra la apliqué con una microjeringa en la cantidad de 2.0 microlitros a una distancia de 0.5 cm. del borde inferior de la placa.

4.- El desarrollo de las placas lo hice en cámaras de vidrio con tapa las cuales tienen cabida para cuatro placas.

El corrimiento total fue de 6.5 cm., el tiempo de saturación de cámara fue de 30 minutos y el tiempo de corrimiento de la muestra de 45 a 50 minutos, tiempo transcurrido se sacan las placas y se dejan secar a temperatura ambiente o en estufa a temperatura no muy alta.

5.- La mancha la localicé con luz ultravioleta, marqué el frente de solvente y calculé los diversos valores de RF de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$RF = \frac{\text{Distancia recorrida por el compuesto}}{\text{Distancia recorrida por el eluyente}}$$

RESULTADOS:

Originalmente se tenían los siguientes sistemas:

Sistema No. 1

Alcohol Etílico	0.1 ml.
Dioxano	0.8 "
Benceno	1.0 "
Hidróxido de amonio	0.1 "

Sistema No. 2

Cloroformo	0.5 ml.
Dioxano	1.2 "
Acetato de etilo	0.2 "
Hidróxido de amonio	0.1 "

Sistema No. 3

Acetato de etilo	1.2 ml.
Benceno	0.7 "
Hidróxido de amonio	0.1 "

Sistema No. 4

Alcohol etílico	0.1 ml.
Cloroformo	0.2 "
Dioxano	1.0 "
Eter de petróleo	0.3 "
Benceno	0.2 "
Acetato de etilo	0.1 "
Hidróxido de amonio	0.1 "

Los sistemas Nos. 1 y 2, con diferentes tiempos de saturación de cámara, tuvieron corrimientos más o menos buenos.

El sistema No. 3 tuvo resultados totalmente negativos.

El sistema No. 4 se desechó porque tenía separaciones más o menos buenas pero debido al número de componentes_

que intervenían no era práctico.

Se hicieron muchos cambios en el sistema No. 1, -- tanto en las cantidades de los diversos componentes como en los tiempos de saturación, finalmente se encontró el siguiente sistema, el cual con 30 minutos de saturación de la cámara dividía perfectamente tres compuestos con tiempo de corrimiento de 45 a 50 minutos.

<u>Sistema</u>	<u>Tiempo de Saturación</u>	<u>Resultado</u>
Alcohol etílico 0.7 ml.		
Dioxano 0.5 ml.	30 minutos	Separación de tres componentes
Benceno 0.35 ml.		
Hidróxido de amonio 0.45 ml.		

Se hicieron cerca de 50 placas con el sistema y -- tiempo de saturación anterior con el fin de obtener un valor promedio de RF.

<u>No. de placas</u>	<u>Distancia de la muestra</u>	<u>Distancia del eluyente</u>	<u>Valor del RF</u>
5	4.60	6.10	0.75
6	4.95	6.50	0.76
9	4.90	6.35	0.77
8	4.95	6.35	0.78
9	5.15	6.50	0.79
6	4.90	6.05	0.80

Multiplicando cada RF por el número de placas hechas, sumando el total y dividiendo entre 43 obtenemos el valor promedio de RF.

<u>No. de placas</u>	X	RF
5		0.75 = 3.75
6		0.76 = 4.56
9		0.77 = 6.93
8		0.78 = 6.24
9		0.79 = 7.11
<u>6</u>		0.80 = <u>4.80</u>
43		33.39

$$\text{RF promedio} = \frac{33.39}{43} = 0.77$$

La mancha que se usó para hacer los cálculos de RF fue la segunda ya que se identificó como mesalina por la reacción de Lugol y la del ácido nítrico.

CONCLUSIONES:

1.- El método cromatográfico resuelve con notable éxito el problema de la separación e identificación de los componentes de un grupo de sustancias químicamente parecidas, o la demostración de sustancias de muy baja concentración en los líquidos biológicos.

2.- Se utiliza un soporte inerte (gel de sílice) cuyas propiedades de adsorción pueden regularse hasta cierto punto.

3.- 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 incluyendo ácido sulfúrico y calentamiento a temperaturas superiores a los 100° C.

4.- Se incluye un indicador fluorescente en la capa delgada, lo que permite localizar muy fácilmente las sustancias después de su separación, pues aparecen como manchas oscuras cuando se ilumina la placa con luz ultravioleta de pequeña longitud de onda.

5.- Las sustancias a estudiar no son modificadas y pueden ser recobradas por elusión del cromatograma, con vistas a realizar más pruebas.

6.- Es rápida, económica y permite una mejor localización de las manchas, pues el tiempo durante el cual pue

den ocurrir ciertas difusiones de la muestra es menor; esta mayor resolución permite separar mejor compuestos muy parecidos.



QUIMICA