

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO
NACIONAL

UNIDAD IRAPUATO

Perfil de alcaloides de algunas especies de la
familia Cactaceae

Tesis que presenta:

Biól. Jessica Cuevas Contreras

Para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias

En la especialidad de:

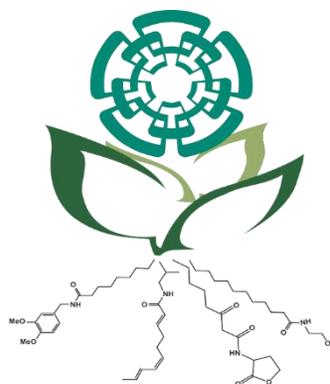
Biotecnología de Plantas

Director de Tesis:

Dr. Jorge Molina Torres

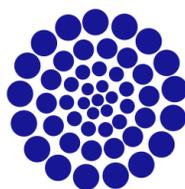
Guanajuato, México

Agosto, 2018



Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Fitobioquímica del Departamento de Biotecnología y Bioquímica del Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato bajo la dirección del Dr. Jorge Molina Torres y la asesoría del Dr. Luis Eugenio González de la Vara y el Dr. José Juan Ordaz Ortiz.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca 782262 otorgada para el desarrollo de la presente investigación.



CONACYT

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	6
ABSTRACT.....	7
1. ANTECEDENTES.....	8
1.1. Alcaloides.....	8
1.1.1. Alcaloides derivados de L-Tirosina.....	10
1.2. Familia Cactaceae.....	13
1.2.1. Características anatómicas, morfológicas y fisiológicas	14
1.2.2. Usos e importancia	15
1.2.3. Estado de conservación.....	16
1.2.4. Géneros con presencia de alcaloides	17
1.3. Cromatografía.....	29
1.3.1. Cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC)	29
1.3.2. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-EIMS)	29
1.4. Fingerprinting	30
2. OBJETIVOS	31
2.1. General	31
2.2. Específicos	31
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1. Sitios de adquisición.....	31
3.1. Material biológico	33
3.2. Obtención de extractos.....	33
3.3. HPTLC	34
3.4. GC-EIMS	35
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1. TLC y HPTLC de extracto crudo.....	38
4.2. Cromatogramas y espectros de masas obtenidos mediante GC-EIMS	42
5. CONCLUSIONES.....	54
6. ANEXOS.....	55
7. REFERENCIAS.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Estructura general de feniletilamina (121.180 Da)</i>	<i>10</i>
<i>Figura 2. Estructura de las feniletilaminas más estudiadas y su actividad biológica.....</i>	<i>11</i>
<i>Figura 3. Estructura general de tetrahidroisoquinolina (133.190 Da).....</i>	<i>12</i>
<i>Figura 4. Tetrahidroisoquinolinas simples representativas de la familia Cactaceae</i>	<i>13</i>
<i>Figura 5. Caracteres morfológicos de cactáceas</i>	<i>15</i>
<i>Figura 6. Categorías de especies en riesgo en IUCN</i>	<i>16</i>
<i>Figura 7. Categorías de especies en riesgo en NOM-059, SEMARNART</i>	<i>17</i>
<i>Figura 8. Sitios de adquisición de las muestras biológicas.</i>	<i>32</i>
<i>Fig. 9. Comparación del perfil de alcaloides en función del método de extracción y sistema de solventes.....</i>	<i>36</i>
<i>Figura 10. Comparación de cromatogramas de los extractos de cactáceas en función al método de extracción.....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 11. Perfil de alcaloides en extracto crudo de cactáceas, derivatizado con ninhidrina.</i>	<i>39</i>
<i>Figura 12. Especies de cactáceas con presencia de alcaloides.....</i>	<i>40</i>
<i>Figura 13. HPTLC de alcaloides en extracto crudo de cactáceas.</i>	<i>41</i>
<i>Figura 14. Cromatograma de extracto de Coryphantha elephantidens</i>	<i>42</i>
<i>Figura 15. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de macromerina.</i>	<i>43</i>
<i>Figura 16. Cromatograma de extracto de Coryphantha palmeri.....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 17. Cromatograma de extracto de Echinocactus grusonii</i>	<i>44</i>
<i>Figura 18. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de hordenina.</i>	<i>45</i>
<i>Figura 19. Cromatograma de extracto de Echinopsis pachanoi</i>	<i>46</i>
<i>Figura 20. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de mescalina.</i>	<i>46</i>
<i>Figura 21. Localización de mescalina en tejidos de Echinopsis pachanoi.....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 22. Cromatograma del extracto de Mammillaria baumii</i>	<i>47</i>
<i>Figura 23. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de 4-metoxianfetamina.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 24. Comparación del espectro de masas de longimammosina.</i>	<i>48</i>
<i>Figura 25. Cromatograma de extracto de Mammillaria longimamma.</i>	<i>49</i>
<i>Figura 26. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de longimammatina.</i>	<i>49</i>
<i>Figura 27. Cromatograma de extracto de Mammillaria mathildae.....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 28. Cromatograma de extracto de Mammillaria melaleuca.</i>	<i>51</i>
<i>Figura 29. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de efedrina.</i>	<i>51</i>
<i>Figura 30. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de efedrina silanizada.....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 31. Comparación de perfil de alcaloides en función del sistema de revelado.....</i>	<i>53</i>

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Clasificación de alcaloides con base en su aminoácido precursor y su distribución en el reino Plantae (taxón Angiospermae)</i>	<i>9</i>
--	----------

ÍNDICE DE ANEXOS

<i>Anexo 1. Mecanismo de acción del reactivo Ninhidrina</i>	<i>55</i>
<i>Anexo 2. Mecanismo de acción del reactivo Dragendorff</i>	<i>55</i>
<i>Anexo 3. Cromatograma de extracto derivatizado por silanización de <i>Coryphantha palmeri</i></i>	<i>56</i>
<i>Anexo 4. Cromatograma de extracto derivatizado por silanización de <i>Mammillaria melaleuca</i></i>	<i>56</i>
<i>Anexo 5. Compuestos identificados en <i>Coryphantha elephantidens</i></i>	<i>57</i>
<i>Anexo 6. Compuestos identificados en <i>Coryphantha palmerii</i></i>	<i>57</i>
<i>Anexo 7. Compuestos identificados en <i>Echinocactus grusonii</i></i>	<i>57</i>
<i>Anexo 8. Compuestos identificados en <i>Echinopsis pachanoi</i></i>	<i>58</i>
<i>Anexo 9. Compuestos identificados en <i>Mammillaria baumii</i></i>	<i>58</i>
<i>Anexo 10. Compuestos identificados en <i>Mammillaria longimamma</i></i>	<i>59</i>
<i>Anexo 11. Compuestos identificados en <i>Mammillaria mathildae</i></i>	<i>59</i>
<i>Anexo 12. Compuestos identificados en <i>Mammillaria melaleuca</i></i>	<i>60</i>
<i>Anexo 13. Identificación de mescalina en extracto crudo de <i>Echinopsis pachanoi</i></i>	<i>60</i>

RESUMEN

Las cactáceas además de su uso ornamental, alimenticio y medicinal, desde épocas prehispánicas han sido empleadas en rituales religiosos por su potencial psicoactivo. Esta propiedad se debe a la presencia de alcaloides, los cuales, tradicionalmente se definen como compuestos que tienen nitrógeno heterocíclico y poseen carácter alcalino. Los alcaloides se pueden clasificar con base en su aminoácido precursor, los que predominan en estas plantas derivan de la tirosina y son del tipo feniletilaminas y tetrahidroisoquinolinas.

La similitud estructural de estos compuestos alucinógenos con los neurotransmisores hace que sean de interés farmacéutico ya que representan un valioso potencial en terapia psiquiátrica o como posible herramienta en la explicación del origen bioquímico de anormalidades mentales. A pesar de que existen diversos listados de especies utilizadas como enteógenos en comunidades indígenas, son pocas las cactáceas que se han analizado fitoquímicamente por lo que podrían ser fuente de compuestos bioactivos.

Diversos factores, entre ellos la recolección ilegal y la baja tasa de crecimiento, han colocado a estas plantas en peligro de extinción por lo que es importante generar alternativas poco invasivas para su análisis. La obtención del perfil cromatográfico (fingerprinting) proporciona un patrón característico que puede ser útil para su identificación y así servir de referencia para análisis posteriores.

En el presente trabajo se analizaron 20 especies de cactáceas mediante cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-EIMS). Sin embargo, solo *Coryphantha elephantidens*, *Coryphantha palmeri*, *Echinocactus grusonii*, *Echinopsis pachanoi*, *Mammillaria baumi*, *Mammillaria longimamma*, *Mammillaria mathildae* y *Mammillaria melaleuca* mostraron presencia de alcaloides.

Se identificaron 20 alcaloides, la mayoría de ellos ya han sido reportados en esta familia, sin embargo, es el primer reporte de efedrina y metoxianfetamina en cactáceas.

Cada especie mostró un perfil cromatográfico característico por lo que los alcaloides podrían ser compuestos de referencia para la identificación de estas plantas.

ABSTRACT

Cacti, in addition to their ornamental, nutritional and medicinal use, have been used in religious rituals since pre-Hispanic times, due to their psychoactive potential. This property is caused by the presence of alkaloids, which are traditionally defined as compounds that have heterocyclic nitrogen and have an alkaline nature. The alkaloids can be classified based on their precursor amino acid; the ones that predominate in these plants are derived from tyrosine and are of the phenylethylamine and tetrahydroisoquinolines type.

The structural similarity of these hallucinogenic compounds with neurotransmitters makes them of pharmaceutical interest because they represent a valuable potential in psychiatric therapy or as a possible tool in the explanation of the biochemical origin of mental abnormalities. Although there are diverse lists of species used as entheogens in indigenous communities, there are few cacti that have been analyzed phytochemically, so they could be a source of bioactive compounds.

Several factors, including illegal collection and low growth rate, have placed these plants in danger of extinction, so it is important to generate non-invasive alternatives for their analysis. A chromatographic profile (fingerprinting) provides a characteristic pattern that can be useful for its identification and thus serve as reference for later analyzes.

In the present work 20 species of cacti were analyzed by high resolution thin layer chromatography (HPTLC) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-EIMS). However, only *Coryphantha elephantidens*, *Coryphantha palmeri*, *Echinocactus grusonii*, *Echinopsis pachanoi*, *Mammillaria baumi*, *Mammillaria longimamma*, *Mammillaria mathildae* and *Mammillaria melaleuca* showed presence of alkaloids.

Twenty alkaloids were identified, most of them have already been reported in this family, but it is the first report of ephedrine and methoxyamphetamine in cacti.

Each species showed a characteristic chromatographic profile, so the alkaloids could be reference compounds for the identification of these plants.

1. ANTECEDENTES

1.1. Alcaloides

Los alcaloides son un grupo diverso de compuestos nitrogenados producidos por una gran cantidad de organismos, van desde bacterias hasta animales, sin embargo, predominan en plantas superiores. Alrededor del 25% de las especies de plantas superiores acumulan estos compuestos. En los tejidos vegetales se pueden encontrar como sales hidrosolubles, ésteres o combinados con taninos o azúcares, rara vez se encuentran como bases libres (Aniszewski, 2015; Facchini, 2001; Kukulka-Koch y Widelski, 2017; Kutchan, 1995).

Dada su gran diversidad estructural, no existe una definición satisfactoria, pero tradicionalmente fueron clasificados como compuestos alcalinos derivados de aminoácidos que contenían uno o más átomos de nitrógeno, usualmente en un sistema cíclico (Harborne, 1973).

Los alcaloides siempre han sido un tema fascinante ya que son compuestos de gran interés científico y económico por sus diversas aplicaciones (Aniszewski, 2015).

Aunque algunos pueden ser tóxicos para el hombre o tener actividad psicoactiva, son populares por su importancia médica y farmacéutica. Su actividad biológica es diversa, por ejemplo, existen anticancerígenos como vinblastina y taxol; relajantes musculares como la tubocurarina; antiarrítmicos como la ajmalina; antihipertensivos como la reserpina y sedantes como la escopolamina. También presentan potencial para la industria alimenticia, cosmética y agrícola (Debnath *et al.*, 2018; Facchini, 2001).

Además, sirven como modelo para síntesis de nuevos compuestos o análogos con mejores propiedades, por ejemplo, la atropina para tropicamida y la cocaína para procaína y tetracaína (Kutchan, 1995).

El efecto tóxico de los alcaloides radica en su capacidad de bloquear neuroreceptores intermediarios de la transducción de la señal neuronal y de canales iónicos de los vertebrados (Levin y York, 1978). Mientras que su actividad alucinógena o psicoactiva se debe a la similitud estructural con los neurotransmisores acetilcolina, epinefrina, norepinefrina, dopamina, ácido γ -aminobutírico y serotonina. Por este tipo de actividad, representan un valioso potencial para su uso en terapia psiquiátrica o como posible herramienta en la explicación del origen bioquímico de anomalías mentales (Abraham *et al.*, 1996; Ghansah *et al.*, 1993).

Estos compuestos se pueden clasificar por distintos criterios: 1) estructura química, 2) origen taxonómico, 3) actividad biológica, 4) ruta biosintética o 5) aminoácido precursor.

De acuerdo con su ruta biosintética se clasifican de la siguiente manera (Aniszewski, 2015; Khan *et al.*, 2013).

- ⬡ Alcaloides verdaderos: derivan de aminoácidos, presentan nitrógeno intracíclico y son de carácter básico. Sus precursores son L-ornitina, L-tirosina, L-triptófano, L-lisina y L-histidina. Por ejemplo, la dopamina.
- ⬡ Protoalcaloides: compuestos que, aunque también derivan de aminoácidos, el nitrógeno es extracíclico. Estos alcaloides pueden derivar de L-tirosina y L-triptófano. Por ejemplo, la mescalina.
- ⬡ Pseudoalcaloides: estos compuestos no derivan de aminoácidos, pero se conectan con sus rutas biosintéticas. Por ejemplo, la efedrina.
- ⬡ Imperfectos: derivan de las bases púricas. Por ejemplo, la cafeína.

Sin embargo, la clasificación más utilizada es de acuerdo con el aminoácido que proporciona tanto el átomo de nitrógeno como la porción fundamental del esqueleto del alcaloide (Dewick, 2002).

Tabla 1. Clasificación de alcaloides con base en su aminoácido precursor y su distribución en el reino Plantae (taxón Angiospermae)

L-Ornitina	L-Tirosina	L-Triptófano	L-Lisina	L-Histidina
👁️ Tropano	👁️ Feniletilamina	👁️ Indol	👁️ Quinolizidina	👁️ Imidazol
👁️ Pirrolidina	👁️ Isoquinolinas	👁️ Quinolina	👁️ Piperidina	
👁️ Pirrolizidina	👁️ Bencilisoquinolinas	👁️ β-Carbolina	👁️ Indolizidina	
Familia en la que se han reportado				
🌱 Asteraceae	🌱 Amaranthaceae	🌱 Amaranthaceae	🌱 Crassulaceae	🌱 Cactaceae
🌱 Boraginaceae	🌱 Amaryllidaceae	🌱 Asteraceae	🌱 Fabaceae	🌱 Rutaceae
🌱 Capparidaceae	🌱 Berberidaceae	🌱 Apocynaceae	🌱 Piperaceae	
🌱 Erythroxylaceae	🌱 Cactaceae	🌱 Convolvulaceae	🌱 Punicaceae	
🌱 Fabaceae	🌱 Euphorbiaceae	🌱 Elaeagnaceae		
🌱 Solanaceae	🌱 Liliaceae	🌱 Fabaceae		
	🌱 Loganiaceae	🌱 Icacinaceae		
	🌱 Menispermaceae	🌱 Loganiaceae		
	🌱 Papaveraceae	🌱 Malvaceae		
	🌱 Poaceae	🌱 Nyssaceae		
	🌱 Ranunculaceae	🌱 Poaceae		
	🌱 Rhamnaceae	🌱 Rubiaceae		
	🌱 Rubiaceae	🌱 Zygophyllaceae		

(Aniszewski, 2015; O'Connor, 2010)

En el presente trabajo nos enfocaremos a los alcaloides presentes en algunas cactáceas, en esta familia predominan los compuestos derivados de la tirosina.

1.1.1. Alcaloides derivados de L-Tirosina

La ruta del ácido shikímico es la más importante para la síntesis de compuestos aromáticos, particularmente de los aminoácidos L-fenilalanina, L-tirosina y L-triptófano, los cuales solo se sintetizan *de novo* en microorganismos y plantas (Schenck y Maeda, 2018). La biosíntesis de la tirosina inicia con el producto final de esta ruta, el ácido corísmico, el cual se transforma a ácido prefénico mediante la enzima *corísmato mutasa*. A partir de este ácido se pueden formar dos compuestos intermediarios, ácido 4-hidroxifenilpiruvico en microorganismos y L-arogenato en plantas (Funayama y Cordell, 2015; Heldt, 2005; Schenck y Maeda, 2018).

Esté aminoácido es el precursor de feniletilaminas y tetrahidroisoquinolinas simples, pero también de otros compuestos, como benciltetrahidroisoquinolinas, tetrahidroisoquinolinas terpenoides, ftalideisoquinolinas, fenetilisquinolinas y norbeladinas, estos últimos se encuentran únicamente en la familia Amaryllidaceae (Dewick, 2002; Kukula-Koch y Widelski, 2017).

1.1.1.1. Feniletilaminas

β -feniletilaminas son un grupo de aminas biogénicas o alcaloides que comúnmente se encuentran en la familia Cactaceae, sin embargo, existen reportes de su presencia en algas, hongos y bacterias. De acuerdo con la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) su nombre correcto es 2-feniletilamina y su fórmula molecular es $C_8H_{11}N$ (Figura 1) (Irsfeld *et al.*, 2013).

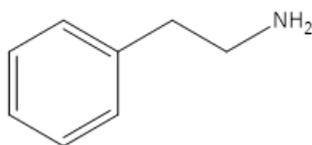


Figura 1. Estructura general de feniletilamina (121.180 Da)

Estos compuestos se pueden clasificar en dos grandes grupos según el patrón de sustitución en el anillo: a) patrón de 3,4,5-trisustitución presentes en plantas y b) patrón de 2,4,5-trisustitución en plantas y animales. En ambas clases la *N*-alquilación y la *N,N*-alquilación atenúa drásticamente la actividad (Nichols, 1986; Shulgin, 1979).

Las feniletilaminas comprenden la clase más grande de compuestos alucinógenos. Desde un contexto histórico, la mescalina (Figura 2) es uno de los más importantes. Se trata de un agonista no selectivo del receptor de la serotonina. Este receptor, juega un papel importante en varios procesos como la ansiedad, la agresión, el aprendizaje, la memoria, el sueño y el estado de ánimo (Debnath *et al.*, 2018; Lundström, 1983).

Desde que se sintetizó por primera vez en 1919 ha servido como modelo para la generación de compuestos análogos. Estas modificaciones estructurales se han enfocado en cuatro áreas principales: 1) la orientación de los sustituyentes del anillo aromático, 2) la alquilación de la cadena lateral, 3) la alquilación del grupo amino y 4) el carácter de los sustituyentes aromáticos. Algunos ejemplos son: la escalina, la proscalina y la isoproscalina, todas reemplazados en el grupo 4-metoxi por etoxi, n-propoxi e isopropoxi, respectivamente (Nichols, 1986).

Ghansah *et al.*, 1993 sugieren que la mescalina y sus análogos inhiben las sinapsis colinérgicas neuromusculares bloqueando la liberación de acetilcolina y que también pueden afectar la conductancia de K⁺.

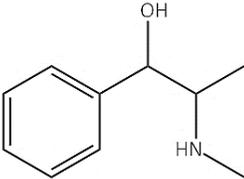
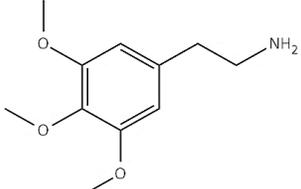
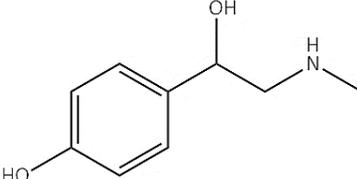
Efedrina	Mescalina	Sinefrina
Masa atómica promedio: 165.232 Da	Masa atómica promedio: 211.258 Da	Masa atómica promedio: 167.205 Da
		
Broncodilatador	Alucinógeno	Descongestivo

Figura 2. Estructura de las feniletilaminas más estudiadas y su actividad biológica

Las catecolaminas son un grupo de feniletilaminas hidroxiladas. En mamíferos son conocidas como neurotransmisores, sin embargo, también se pueden encontrar en plantas y su síntesis es controlada por condiciones de estrés. Aunque su papel y acción solo son parcialmente entendidos, estos compuestos están involucrados en aspectos de crecimiento y desarrollo, ya que afectan la acción de varias hormonas y regulan el metabolismo de los carbohidratos y la permeabilidad iónica. Además, protegen a las plantas contra patógenos y están involucradas en la desintoxicación de nitrógeno y en la adaptación a cambios ambientales (Irsfeld *et al.*, 2013; Kulma y Szopa, 2007; Odjakova y Hadjiivanova, 1997).

Se han encontrado en 44 especies de plantas, por ejemplo: dopamina en *Musa acuminata*, *Persea americana* y *Carnegieia gigantea*; epinefrina y norepinefrina en *Lophophora williamsii*, *Coryphantha macromeris*, *Citrus sinensis*, *Malus sylvestris*, *Lycopersicon esculentum*, *Pisum sativum* y *Spinacia oleracea* (Smith, 1977).

Estos compuestos también sirven como precursores de isoquinolinas. Generalmente su biosíntesis inicia con la conversión de tirosina a dopamina, la cual puede ser puede ser mediante 2 vías: la hidroxilación de tiramina o la descarboxilación de L-dopa.

Posteriormente, el anillo aromático de la dopamina puede ser *O*-metilado o hidroxilado. Experimentalmente se ha demostrado que los ácidos peyoxílico y el ácido pirúvico juegan un papel importante como intermediarios en esta transformación biogénica (Dewick, 2002; Lundström, 1983).

Las principales reacciones involucradas en la síntesis de isoquinolinas son: a) Pictet-Spengler, b) Bischler-Napieralski y c) Pomeranz-Fritsch. En las dos primeras reacciones el derivado de feniletilamina 3,4,5-trioxigenado es el punto de partida para formar una tetrahydroisoquinolina sustituida en C₁. El sustituyente deriva de una reacción con un aldehído o de una ciclación del derivado *N*-acilo, respectivamente. En la reacción Pomeranz-Fritsch el compuesto de partida es *N*-bencil-amino-acetaldehído dietilacetal, aquí solo hay un producto de ciclación (Kapadia y Fayez, 1970; Shamma y Moniot, 1978).

Esta secuencia de reacciones solo ha sido estudiada a detalle en los alcaloides de *Lophophora williamsii*, por lo que es importante buscar nuevas fuentes de alcaloides de este tipo para estudiar si presentan rutas metabólicas alternas.

1.1.1.2. *Tetrahydroisoquinolinas*

Según la IUPAC el nombre correcto de este compuesto es 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina. Estos compuestos generalmente se encuentran sustituidos en la posición 1 por grupos hidroxilo (R-OH), metoxi (R-O-CH₃), metilendioxi (R-O-CH₂-O-R'), *N*-metil o *N*-etil. También pueden presentar estructuras aromáticas adicionales. Su fórmula molecular es C₉H₁₁N (Figura 3) (Luckner, 1990).

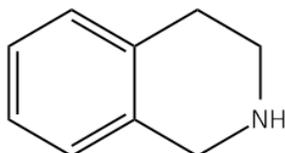


Figura 3. Estructura general de tetrahydroisoquinolina (133.190 Da)

Las tetrahydroisoquinolinas mantienen una posición especial en el campo de los alcaloides con actividad fisiológica, ya que a partir del aislamiento de morfina del látex seco de *Papaver somniferum* se inició la búsqueda de fármacos en extractos vegetales. Algunos ejemplos son: la noscapina con actividad antitusiva; la papaverina como vasodilatador; la berberina y sanguinarina con actividad antibacteriana y la coridalina como sedante. De todos estos compuestos solo la papaverina es producida sintéticamente para uso industrial, los demás son biosintetizados a partir de la reticulina (Sato y Kumagai, 2013).

Estos compuestos se encuentran principalmente en las especies de Amaranthaceae, Cactaceae, Euphorbiaceae y Fabaceae (Bisset, 2012).

Los sustituyentes monooxigenados generalmente se encuentran en C₇, mientras que los dioxigenados en C₆ y C₇ o C₇ y C₈ y los trioxigenados en C₅, C₆ y C₇ o C₆, C₇ y C₈. Sin embargo, existen algunas excepciones. En la familia Cactaceae se han encontrado compuestos monooxigenados en C₆ y C₈, como longimammosina y longimammadina, dioxigenados en C₄ y C₈ como longimammamina y lofocerina que tiene un sustituyente isobutil en C₁ (Figura 4). Al ser inusuales, estas isoquinolinas son de interés científico para entender mejor su biosíntesis (Lundström, 1983; Shamma, 1972).

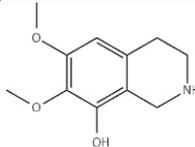
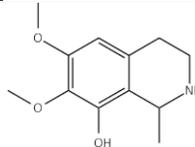
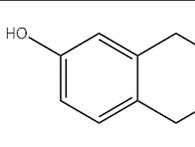
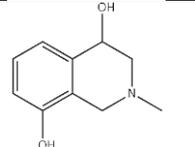
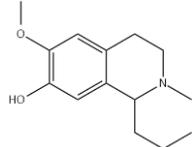
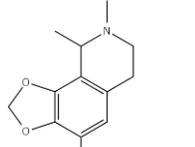
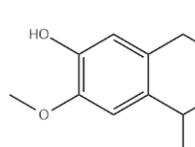
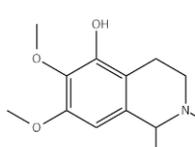
Anhalamina	Anhalonidina	Longimammosina	Longimammamina
 <p>Masa atómica promedio: 209.242 Da</p>	 <p>Masa atómica promedio: 223.268 Da</p>	 <p>Masa atómica promedio: 163.216 Da</p>	 <p>Masa atómica promedio: 178.207 Da</p>
Lofocerina	Lofoforina	Salsolina	Gigantina
 <p>Masa atómica promedio: 249.349 Da</p>	 <p>Masa atómica promedio: 235.279 Da</p>	 <p>Masa atómica promedio: 193.242 Da</p>	 <p>Masa atómica promedio: 237.295 Da</p>

Figura 4. Tetrahidroisoquinolinas simples representativas de la familia Cactaceae

El espectro de masas por impacto electrónico de las tetrahidroisoquinolinas simples que llevan sustituyente en C-1 muestran iones moleculares de muy baja intensidad. La primera reacción involucra la expulsión del sustituyente C-1, dando el ion dihidroisoquinolinio que es altamente estable. Mientras que, la abundancia de los picos en los espectros de tetrahidroisoquinolinas sin sustituyente se debe a los iones que se forman por el colapso del sistema heterocíclico a través de la reacción retro-Diels-Alder (Lundström, 1983).

1.2. Familia Cactaceae

Son plantas dicotiledóneas que se distribuyen principalmente en el continente americano, a excepción de *Rhipsalis baccifera* que se encuentra en África y Asia. Es una familia muy diversa, tiene alrededor de 1,900 especies, distribuidas en 125 géneros (Byng, 2004; Durán y Méndez, 2010; Ortega-Baes *et al.*, 2010).

Las cactáceas habitan todas las ecorregiones, incluso en selvas tropicales pero la mayor diversidad se concentra en regiones áridas y semiáridas. Se han reconocido cuatro principales centros de diversificación: 1) México y suroeste de Estados Unidos; 2) Los Andes

Centrales en Ecuador, Perú, Bolivia, Chile y Argentina; 3) El este de Brasil; y 4) El Oeste y Sur de Brasil, Paraguay y Uruguay (Byng, 2004; Ortega-Baes *et al.*, 2010).

México se considera el principal centro de diversificación de esta familia. Cuenta con 850 especies y posee un alto grado de endemismo: 73% a nivel de género y 78% al nivel de especie (Durán y Méndez, 2010). Las áreas mexicanas con mayor incidencia de cactáceas son: Región del desierto Chihuahuense, incluyendo Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato, Hidalgo y Querétaro; el desierto de Sonora; el Valle Tehuacán-Cuicatlán; y el Valle Metzititlán-Zimapán (Bravo-Hollis, 1978).

1.2.1. Características anatómicas, morfológicas y fisiológicas

Las cactáceas tienen gran diversidad morfológica, el tallo puede ser globular o columnar, las flores son solitarias y generalmente bisexuales, la mayoría son actinomorfas y poseen un perianto libre de tépalos donde se encuentra el carpelo. Algunas especies tienen laticíferos. La dispersión de semillas es a través de aves, insectos o reptiles (Boke, 1980; Byng, 2004).

Una característica distintiva de esta familia es la presencia de areolas, zonas meristemáticas donde surgen espinas, flores, tricomas, gloquidios (*Opuntia*) u hojas (*Pereskia*) (Byng, 2004).

Estas plantas desarrollaron características morfológicas, fisiológicas y anatómicas que les permitieron adaptarse exitosamente a ambientes de sequía extrema. Entre las que destacan: a) formación de espinas, estructuras que reducen la pérdida de agua por evaporación, b) fijación de CO₂ durante la noche, este proceso fisiológico al que se le denomina metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) evita la pérdida de agua por transpiración ya que los estomas permanecen cerrados durante el día, c) engrosamiento de epidermis y cutícula y la presencia de cera epicuticular para disminuir la pérdida de humedad y d) presencia de traqueidas de banda ancha en el xilema para optimizar la retención del agua (Bravo-Hollis, 1978; Durán y Méndez, 2010).

La fijación nocturna de CO₂ produce ácido málico, ante esto las plantas son forzadas a formar tejido no fotosintético para almacenar agua y por consiguiente son plantas de crecimiento lento (Bravo-Hollis, 1978).

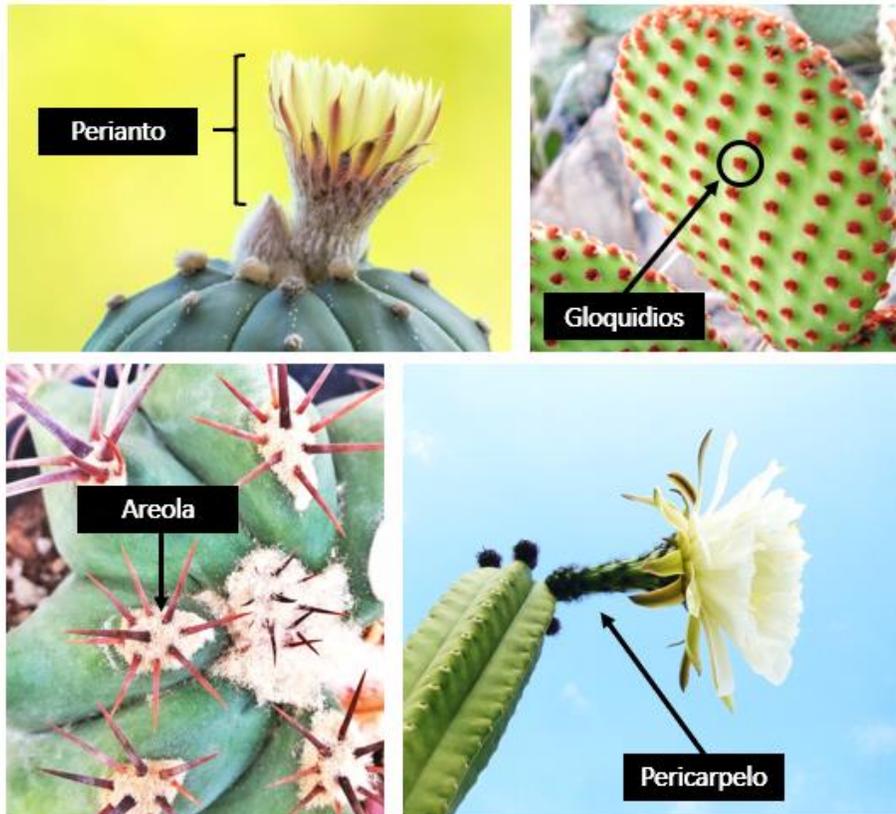


Figura 5. Caracteres morfológicos de cactáceas

1.2.2. Usos e importancia

En México, desde tiempos prehispánicos, las cactáceas han sido fuente de alimento, bebida, medicina y de materia prima para la construcción de viviendas y manufactura de armas de caza y pesca (Hollis-Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991).

La mayoría de los frutos de estas plantas son comestibles, siendo los más representativos el garambullo *Myrtillocactus geometrizans* y la pitahaya que se obtiene de diferentes especies de *Stenocereus*. El género *Opuntia* es una fuente de alimento importante ya que no solo se consume su fruto (tuna), también los cladodios jóvenes (pencas) y son altamente utilizados en la gastronomía mexicana. Otro cactus con importancia gastronómica-cultural es *Echinocactus platyacanthus*, a partir de la cristalización de su parénquima se elabora el dulce típico denominado acitrón (Hollis-Bravo y Sánchez-Mejorada, 1991).

Los cactus presentan gran variabilidad de compuestos por lo que son una excelente fuente de pigmentos. Muchos géneros son productores de betalainas, moléculas orgánicas con 2 o 3 átomos de nitrógeno que son solubles en agua. Sus colores van desde amarillo y naranja

debido a las betaxantinas, hasta rojo y morado por la presencia de betacianinas, por lo que son ampliamente utilizadas en la industria alimenticia (Santos-Díaz *et al.*, 2010).

Algunas especies tienen importancia sociocultural ya que se han empleado en rituales religiosos y ceremonias de adivinación para inducir alucinaciones visuales, auditivas y táctiles. Esta propiedad alucinógena se debe a la presencia de alcaloides. La especie más estudiada es *Lophophora williamsii*, el peyote, en el cual se han encontrado más de 56 compuestos, predominando isoquinolinas y derivados de feniletilaminas (Aniszewski, 2015; Ghansah *et al.*, 1993; Lundström, 1983; Schultes, 1977).

1.2.3. Estado de conservación

Las actividades agropecuarias y comerciales han impactado severamente las poblaciones de las cactáceas. Además, la pérdida y degradación de su hábitat, así como su recolección ilegal se han convertido en una grave amenaza para toda la familia (Durán y Méndez, 2010; Ortega-Baés *et al.*, 2010).

El Libro Rojo de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN) es una base de datos que provee información taxonómica, distribución y estado de conservación de plantas, hongos y animales. Estas especies son evaluadas con un sistema diseñado para determinar su riesgo de extinción. La base de datos también incluye información de especies extintas e incluso de las que no han podido ser catalogadas por insuficiencia de información. Según la IUCN, 415 especies de cactáceas se encuentran amenazadas, 933 especies con preocupación menor y de 129 no se tiene información suficiente.



Figura 6. Categorías de especies en riesgo en IUCN

EX= extinto, EW= extinto en estado silvestre, CR= peligro crítico de extinción, EN= peligro de extinción, VU= vulnerable, NT= casi amenazada, LC= preocupación menor y DD= datos deficientes.

La Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES), es un convenio que controla el tráfico de especies a través de un sistema de licencias. Solo 5, 000 especies de animales y 28, 000 de plantas están protegidas contra la sobreexplotación y estas se agrupan en apéndices dependiendo de la amenaza a la que se encuentren sometidas. Esta convención considera 3 apéndices, el Apéndice I incluye especies amenazadas de extinción, el Apéndice II indica las especies que podrían estar amenazadas si su comercio no es controlado y el Apéndice III contiene especies que están

protegidas en al menos un país. A excepción de los géneros *Pereskia*, *Peresklopsis* y *Quiabentia*, los demás miembros de la familia Cactaceae se encuentran incluida en el Apéndice II. Mientras que en el Apéndice I solo se encuentran 38 especies.

A nivel Nacional, la Norma Oficial Mexicana (NOM-059) de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNART) se encarga de identificar las especies y poblaciones de flora y fauna silvestres en riesgo en la República Mexicana, mediante la integración de las listas correspondientes, así como establecer los criterios de inclusión, exclusión o cambio de categoría de riesgo para las especies o poblaciones. De acuerdo con este listado, 278 especies de cactáceas se consideran en riesgo.



Figura 7. Categorías de especies en riesgo en NOM-059, SEMARNART

E= probablemente extinta en medio silvestre, P= peligro de extinción, A= amenazada y Pr= sujetas a protección especial.

Por las razones anteriormente expuestas, es importante desarrollar técnicas sencillas y poco invasivas para su análisis, así como generar alternativas para disminuir su sobreexplotación y lograr un uso sustentable.

1.2.4. Géneros con presencia de alcaloides

Existen diversos géneros a los que se les conoce como falsos peyotes, entre los que destacan *Ariocarpus*, *Coryphantha*, *Echinocereus* y *Mammillaria* (Schultes, 1977; Rättsch, 1998), este nombre se debe a que tienen efectos psicoactivos similares, sin embargo, de algunas especies no existe perfil de sus componentes.

Según Trout, 2013, quien realizó una recopilación de estudios de presencia alcaloides en cactáceas, las feniletilaminas predominan en los siguientes géneros: *Ariocarpus*, *Cereus*, *Coryphantha*, *Echinocactus*, *Echinopsis*, *Epithelantha*, *Gymnocactus*, *Lobivia*, *Opuntia*, *Pelecyphora*, *Pereskia* y *Turbinicarpus*, mientras que las tetrahydroisoquinolinas abundan en los géneros, *Backebergia*, *Carnegiea*, *Lophocereus* y *Pelecyphora*. Y en los géneros *Echinocereus*, *Gymnocalycium*, *Lophophora*, *Mammillaria* y *Pachycereus* existe la presencia de ambos compuestos.

1.2.4.1. *Ariocarpus*

Cactus solitarios y formados por tubérculos, en algunas especies pueden parecer hojas. Sus raíces son carnosas y cuentan con un extenso sistema de mucílago. Carecen espinas. Las

areolas lanosas pueden ubicarse en los surcos o en el ápice. Flores diurnas con pericarpelo desnudo (Anderson, 2001). Está formado por 7 especies según The Plant List, 2010.

Los indígenas del norte y centro de México consideran algunas especies como falsos peyotes, por ejemplo, *A. fissuratus* y *A. retusus*, a partir de estos se han aislado diversas feniletilaminas (Bye, 1979; Schultes y Hofmann, 2000; Rättsch, 2005).

La especie más estudiada dentro de este género es *A. fissuratus*, conocido como “Híkuli sunami”, el cual es utilizado como estimulante por los tarahumaras corredores. En *A. agavanooides* se han encontrado *N, N*-dimetil-3-metoxitiramina (Bye, 1979).

☪ *Ariocarpus retusus* Scheidw

Cactus color verde grisáceo que mide de 3 a 25 cm. Tubérculos divergentes que se proyectan sobre el nivel del suelo, agrupados en la base y con terminación puntiaguda. Flores blancas o amarillas. También es conocido como chaute o peyote cimarrón, su nombre huichol es “Tsuwiri” que significa falso peyote. Los huicholes consideran que su consumo puede ser peligroso, se han encontrado alcaloides como hordenina, *N*-metiltiramina y trazas de *N*-metil-3,4-dimetoxi- β -feniletilamina (Anderson, 2001; Gottlieb, 1977; Trout, 2013).

Distribución: Coahuila, Nuevo León y San Luis Potosí.

Estado de conservación: LC (UICN) y Pr (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice I de CITES.

1.2.4.2. *Astrophytum*

Cactus solitario globoso o columnar que ocasionalmente está cubierto de mechones de tricomas blancos o también puede ser glabro, tiene de 4 a 10 costillas, debido a su forma, su nombre deriva del griego *aster* = estrella y *phyton* = planta. Puede tener o no espinas. Flores amarillas con pericarpelo escamoso. Este género está formado por 6 especies y se encuentran en el sur de EU y México en San Luis Potosí, Coahuila, Nuevo León, Chihuahua y Tamaulipas (Anderson, 2001; Garza-Padrón *et al.*, 2010; The Plant List, 2010).

☪ *Astrophytum asterias* (Zucc.) Lem

Tallo globoso, poco aplanado que alcanza de 2 a 5 cm de altura y de 6 a 10 cm de diámetro, se encuentra cubierto con numerosos mechones de tricomas y está formado por 8 costillas divididas por surcos agudos, areolas prominentes y afieltradas. Sus flores son amarillas y carece de espinas (Anderson, 2001). Gottlieb, 1977 reporta su uso como sustituto de peyote en comunidades tarahumaras.

Distribución: sur de Texas, Nuevo León y Tamaulipas.

Estado de conservación: VU (IUCN) y P (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice I de CITES.

Ψ *Astrophytum myriostigma* Lem

Planta globosa o cilíndrica de 10 a 15 cm de diámetro, tiene color blanquecino debido a los abundantes tricomas que presenta, usualmente esta segmentado en 5 costillas triangulares. Carece de espinas y sus flores son amarillas (Anderson, 2001). Gottlieb, 1977 reporta su uso como sustituto de peyote en comunidades tarahumaras.

Distribución: norte y centro de México, principalmente en el desierto Chihuahuense.

Estado de conservación: VU (IUCN) y A (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

1.2.4.3. *Coryphantha*

Son cactus globosos, semiglobosos o columnares con tallo dividido en tubérculos como en el género *Mammillaria*. El nombre *Coryphantha* se origina del griego *koryphe* = cima y *anthos* = flor que significa “floración desde el ápice”. Las flores son de 3 a 10 cm de diámetro y surgen del centro de la planta, caso contrario a *Mammillaria*, que florece en la parte posterior del crecimiento del año anterior, formando un círculo apical (Arias *et al.*, 2012; Byng, 2004; Dicht y Lüthy, 2005; Sánchez-Herrera *et al.*, 2011).

Otras características distintivas de este género son las semillas con testa reticulada y la formación de un surco entre la areola y la yema axilar en la parte superior del tubérculo. Presenta 2 areolas, una vegetativa que produce espinas, situada en el ápice de los tubérculos y la reproductiva que se encuentra en la parte media o en la axila de los tubérculos, estas dos regiones quedan conectadas por el surco areolar. Además, estas plantas tienen el potencial de producir nectarios extraflorales (Arias *et al.*, 2012; Dicht y Lüthy, 2005).

Debido a la variabilidad fenotípica que presentan estas plantas en las diferentes etapas de su desarrollo se pueden confundir con ejemplares juveniles de otros géneros, como son *Escobaria*, *Mammillaria* y *Neolloydia*. Por ello, el número de especies no se ha establecido claramente, varía de 43 a 50 especies y 11 subespecies. De las cuales, solo 6 especies se encuentran en el sur de EU, las demás se distribuyen entre la Sierra Madre Oriental y Occidental (The Plant List, 2010; Vázquez-Benítez *et al.*, 2016).

Desde que Hodgkins *et al.*, 1967 aislaron la macromerina de *C. macromeris*, inicio la búsqueda de alcaloides dentro de este género. Hornemann *et al.*, 1972 realizaron una exploración en siete especies demostrando que son buena fuente de β -feniletilaminas simples, al igual que *Lophophora*. De *C. cornifera* se aislaron dos alcaloides nuevos, los cuales a partir de análisis espectrales determinaron que son β -O-metil-sinefrina y 4-metoxi- α -

hidroxi- β -feniletilamina. Otros alcaloides que se han encontrado en este género son sinefrina, *N*-metiltiramina, hordenina, metanefrina, normacromerina y *N*-metil-4-metoxi- β -feniletilamina (Hornemann *et al.*, 1972; Glasby, 2012).

En 1980, Keller demostró que las catecolaminas, epinefrina y norepinefrina, están presentes en *C. macromeris* var. *runyonii*, sirviendo como intermediarios en la biosíntesis de normacromerina.

☪ *Coryphantha elephantidens* (Lem.) Lem

Este cactus puede crecer solo o formando grandes grupos, su tallo es globoso, puede medir de 8 a 20 cm de diámetro. Tubérculos grandes y gruesos, redondeados, profundamente surcados y densamente lanudos. Carece de espina central y tiene de 6 a 8 radiales, curvadas, amarillas y con puntas marrones. Flores de gran tamaño, rojas o rosas, por lo que son ornamentalmente valoradas, comúnmente se le conoce como cactus colmillo de elefante (Anderson, 2001). Se han encontrado alcaloides como, *N*-metil-3,4-dimetoxifeniletilamina, sinefrina y β -metilsinefrina (Trout, 2013).

Distribución: Michoacán y Morelos.

Estado de conservación: LC (IUCN) y A (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

☪ *Coryphantha palmeri* L. Bremer

Sinonimia: *C. delicata* o *C. compacta*

Es un cactus globular de color verde pálido, tubérculos dispuestos en 13 hileras, pero no se encuentran de manera muy regular. Tiene de 11 a 14 espinas radiales dispuestas de modo irradiado, casi en ángulo recto con la espina central, esta última tiene forma de garfio. Areola muy lanosa en el ápice de cada tubérculo. Flor central y amarilla de aproximadamente 3 cm (Britton y Rose, 1963). *Coryphantha compacta* se considera un falso peyote y es altamente valorada por la comunidad rarámuri (Hornemann *et al.*, 1972; Schultes y Hofmann, 2000).

Distribución: Chihuahua, Tamaulipas y Durango.

Estado de conservación: LC (IUCN) y Pr (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

1.2.4.4. *Echinocactus*

Cactus globular o columnar costillado, ápice cubierto de una masa densa de tricomas amarillos, costillas con surco intercostal amplio y areolas grandes, alargadas y distantes entre sí o confluentes en ejemplares adultos. Flores solitarias que surgen del ápice, pericarpelo y

tubo receptacular con brácteas, perianto amarillo o rosa. Frutos con pelos lanosos. Se encuentran en sudeste de EU y México (Coahuila, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas) (Anderson, 2001; Arias *et al.*, 2012).

Actualmente solo 6 especies son aceptadas dentro de este género: *E. grusonii*, *E. horizonthalonius*, *E. parryi*, *E. platyacanthus*, *E. polycephalus* y *E. texensis* (Anderson, 2001; The Plant List, 2010).

☪ *Echinocactus grusonii* Hildm

Cactus solitario, globoso segmentado con hasta 37 costillas, puede medir hasta 130 cm de alto y 80 cm de diámetro, sus espinas son amarillas o cafés, dependiendo la edad, tiene de 8 a 10 espinas radiales y 4 centrales de 5 cm. Flores de 4 a 6 cm. Su distribución va desde San Luis Potosí a Hidalgo, pero es originario de Querétaro (Anderson, 2001; Britton y Rose, 1963).

En algunos reportes se menciona la presencia de alcaloides (Batis y Rojas, 2002), sin embargo, se desconoce su perfil fitoquímico.

Estado de conservación: EN (IUCN) y P (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

☪ *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto

Cactus globular que puede alcanzar 2 m de altura y 1.2 m de diámetro, la segmentación de su tallo va de 21 a 30 costillas, ápice hundido con forma circular o elíptica y con abundantes tricomas amarillos. Tiene 4 espinas radiales de 1.2 a 1.6 cm y 3 o 4 espinas centrales de 3 cm de largo, estas son de color marrón y con la edad se vuelven grises. Flores diurnas y amarillas de aproximadamente 6 cm. Fruto seco cubierto con lana. Semillas negras de 2.5 mm de largo. Especie endémica de México conocida comúnmente como biznaga dulce o de barril, entre sus usos destaca el alimenticio ya que a partir de este se elabora un dulce tradicional conocido como acitrón. Comercialmente se ha explotado por los tricomas lanosos que produce en el ápice, también se recolectan para hacer cuerdas, mantas y chalecos o simplemente como relleno (Anderson, 2001; Arias *et al.*, 2012; Britton y Rose, 1963; Castañeda-Romero *et al.*, 2016).

Distribución: Coahuila, Guanajuato, Hidalgo, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas (Jiménez-Sierra y Eguiarte, 2010).

Estatus de conservación: NT (UICN) y Pr (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

1.2.4.5. *Echinocereus*

Este género incluye plantas arbustivas poco o muy ramificadas, ápice sin tricomas, flores diurnas y solitarias, pericarpelo y tubo receptacular con brácteas y frutos carnosos, verdes y cubiertos de espinas. Es nativo de regiones áridas y semiáridas del centro y norte de México y del sur de Estados Unidos. Es un grupo taxonómicamente difícil debido a la gran variabilidad morfológica que presenta por lo que se considera que el número de especies oscila entre 44 y 62 (Arias *et al.*, 2012; Sánchez *et al.*, 2013; The Plant List, 2010).

La especie más estudiada es *E. merkeri*, en esta se han encontrado derivados de tiramina y dopamina, así como salsolina (Trout, 2013).

‡ *Echinocereus cinerascens* (DC.) Lem

Cactus que generalmente crece formando montículos, tallo cilíndrico de hasta 12 cm de diámetro y 30 cm de largo, cada tubérculo tiene entre 5 y 12 costillas. Tiene de 1 a 6 espinas rosáceas centrales de 4.5 cm y de 6 a 10 radiales amarillas. Flores apicales de 12 cm de diámetro (Anderson, 2001).

Se han encontrado compuestos como 3,4-dimetoxi- *N*-metilfeniletilamina y 3,4-dimetoxi- *N*, *N*-dimetilfeniletilamina (Trout, 2013).

Distribución: Estado de México, Hidalgo, Querétaro, Guanajuato, Zacatecas y San Luis Potosí.

Estado de conservación: LC (IUCN). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

‡ *Echinocereus scheeri* Salm-Dyck

Tallo cilíndrico que tiene de 6 a 10 costillas, 3 espinas centrales acompañadas con 7 o 9 espinas radiales. Sus flores son rosadas-rojizas de 14 cm de longitud, tubo receptacular de 7.5 cm de longitud y perianto de 6 cm. Se distribuye en la Sierra Tarahumara y Sonora (Anderson, 2001; Sánchez *et al.*, 2013).

Estado de conservación: LC (IUCN). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

‡ *Echinocereus triglochidiatus* Engelm

Planta muy ramificada, regularmente forma montículos con hasta 500 tallos y llega a medir más de 1 m de ancho. Los tallos son cilíndricos con 5 o 12 costillas, miden de 5 a 15 cm de diámetro y de 5 a 40 cm de largo. Tiene de 1 a 4 espinas centrales y hasta 22 radiales, pero no es muy fácil distinguirlas. Flores naranjas o rojas que surgen del ápice (Anderson, 2001).

Bye, 1979 reporta su uso en la comunidad tarahumara y existen reportes de la presencia de N, N-dimetilhistamina (Trout, 2013).

Distribución: EU y México.

Estado de conservación: LC (IUCN). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

1.2.4.6. *Echinopsis*

Su nombre surge del griego *echinos* = erizo y *opsis* = apariencia. Son cactus columnares o globulares con crecimiento arbustivo o solitario. El tallo se encuentra dividido en pocas costillas y sobre el margen de éstas se encuentran las areolas lanosas. Flores nocturnas o diurnas, tubos florales y pericarpelo peludos. Se distribuyen principalmente en Perú, Bolivia, Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina (Anderson, 2001; Britton y Rose, 1963).

Está formado por aproximadamente 133 especies, algunas con presencia de mescalina, por ejemplo, *E. pachanoi*, *E. peruviana*, *E. bridgesii*, *E. cuscoensis*, *E. fulvinanus*, *E. terscheckii*, *E. validus*, *E. macrogonus*, *E. taquimbalensis* y *E. werdermannianus* (Agurell, 1969; Rättsch, 2005; Shulgin, 1979; The Plant List, 2010).

Algunas de estas especies anteriormente pertenecían al género *Trichocereus*, algunos autores lo consideran como un subgénero, pero debido a que esta reclasificación taxonómica es reciente, existen diversos reportes donde se refieren a estas especies como *Trichocereus* sp. (Dubois, 2010; Kvist y Moraes, 2006; Ogunbodede *et al.*, 2010).

☪ *Echinopsis pachanoi* (Britton & Rose) Friedrich & G. D. Rowley

Cactus columnar que puede alcanzar hasta los 6 m de altura, tiene entre 6 y 8 costillas. Sus flores son en forma de embudo y miden de 19 a 24 cm de diámetro, son muy aromáticas y abren por la noche. Tanto el fruto como las escamas sobre el tubo floral tienen pelos largos y negros (Anderson, 2001; Schultes y Hofmann, 2000).

Se conoce comúnmente como San Pedro, aguacolla o huachuma, ha sido utilizado durante años por la cultura Chavín (1300 a.C.) en ceremonias de adivinación y medicina folclórica., junto con otras plantas como *Neoraimondia macrostibas*, *Hippobroma longiflora*, *Euphorbia tithymaloides* y algunas especies de *Datura*, es la base de la bebida alucinógena cimora. También tiene uso como planta ornamental o de cobertura (Bruhn y Bruhn, 1973; Crosby y McLaughlin, 1973; Schultes y Hofmann, 2000).

Al igual que *Lophophora williamsii*, el alcaloide psicoactivo mayoritario es la mescalina. Sin embargo, la composición de alcaloides no es idéntica, mientras que en *E. pachanoi*

predominan las fenetilaminas relacionadas a la mescalina, en *L. williamsii* existe una mezcla de mescalina y tetrahidroisoquinolinas como la pelletina, anhalonidina, lofoforina y anhalonina (Crosby y McLaughlin, 1973).

Otros alcaloides que se han encontrado son tiramina, hordenina, 3-metoxitiramina, 3,4-dimetoxi- β -feniletilamina, 3,4-dimetoxi-4-hidroxi- β -feniletilamina, 3,5-dimetoxi-4-hidroxi- β -feniletilamina y anhalonidina (Crosby y McLaughlin, 1973; Lundström, 1983).

Se ha reportado que en el clorénquima hay mayor concentración de alcaloides en comparación con el resto de la planta (Gottlieb, 1977; Ogunbodede *et al.*, 2010; Trout, 2013).

Distribución: Ecuador, Perú, Chile y Bolivia (Ogunbodede *et al.*, 2010).

Estado de conservación: LC (IUCN). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

1.2.4.7. *Epithelantha*

Son catus solitarios con gran variabilidad en caracteres morfológicos como tamaño, espinas y color. Superficialmente lucen como una *Mammillaria*, pero en 1995 se observó que la estructura de sus areolas es muy diferente, mientras que en *Mammillaria* son dimórficas, en este género no, y las flores surgen de las mismas areolas apicales donde se encuentran las espinas. Estas plantas tienen tallos globosos con presencia de tubérculos cubiertos totalmente por espinas, es difícil distinguir entre las centrales y radiales. Flores apicales blancas o rosas. Se considera que este género solo está formado por 2 especies (Anderson, 2001; The Plant List, 2010).

☪ *Epithelantha micromeris* (Engelm) F. A. C. Weber

Cactus globular más pequeños del desierto Chihuahuense, apenas alcanza 6 cm de diámetro. Sus tubérculos se disponen en múltiples espirales y son poco visibles debido a las abundantes espinas blancas, estos llegan a medir 0.5 cm. Sus frutos son comestibles y se les conoce como “chilitos”. Esta especie es considerada como falso peyote por los indígenas tarahumaras, se le conoce como “Híkuli mulato” y es altamente usado por chamanes. Se han aislado distintos alcaloides y triterpenos, por ejemplo, tiramina, *N*-metiltiramina, 3,4-dimetoxi-*N*-metilfeniletilamina, 3-metoxitiramina, 3,4-dimetoxifeniletilamina (Anderson, 2001; Bye, 1979; Schultes y Hofmann, 2000; Trout, 2013).

Distribución: Texas, Coahuila, Chihuahua, San Luis Potosí y Nuevo León.

Estado de conservación: LC (IUCN) y Pr (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

1.2.4.8. *Mammillaria*

Grupo no monofilético que se caracteriza por tener tallos pequeños y globulares, deprimidos cilíndricos o tuberculados y areolas dimórficas, es decir, una vegetativa que se encuentra en el ápice del tubérculo y es para espinas, mientras que las de floración son axilares, éstas emergen formando un círculo apical (Arias *et al.*, 2012; Butterworth y Wallace, 2004; Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

A este género anteriormente se le denominaba *Dolichothele*, algunos autores lo consideran como un subgénero. Dentro de este grupo se encuentran las especies *M. longimamma*, *M. uberiformis*, *M. melalueca*, *M. baumii* y *M. surculosa* (Ranieri y McLaughlin, 1975).

Su distribución va desde el sudeste de EU hasta Venezuela y Colombia, se conocen aproximadamente 176 especies, de las cuales el 98.7% existen en México y 88.2% son endémicas de este país (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015; The Plant List, 2010).

La mayoría de estos organismos se concentran en sitios de 1,000 a 2,000 m de altitud, en México, se reconocen seis principales áreas de alta riqueza de especies: Baja California Sur, Tamaulipas, sudeste y suroeste de San Luis Potosí y Subregión meridional del desierto Chihuahuense (Guanajuato-Querétaro-Hidalgo) y la última en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Puebla-Oaxaca) (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

Dentro del género existe un alto grado de conservación, una de las razones es que se encuentran parcial o totalmente resguardadas dentro de Áreas Naturales Protegidas de México. Sin embargo, 48 especies están bajo algún nivel de riesgo de extinción (9% en peligro crítico, 11.6% en peligro y 10.3% vulnerable) de acuerdo con los criterios de la UICN (Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

El género *Mammillaria* contiene sustancias enteógenas tales como tetrahidroisoquinolinas, además agrupa a las especies consideradas como falsos peyotes más importantes (Batis y Rojas, 2002; Lundström, 1983; Gottlieb, 1977; Mesa, 2011; Schultes y Hofmann, 2000).

La Hordenina se encontró por primera vez en especies de este género, a partir de una exploración cromatográfica de *M. longimamma*, *M. uberiformis*, *M. melalueca*, *M. baumii* y *M. surculosa*, por lo que Saxton, 2007 concluyó que este género es rico en alcaloides.

En *Mammillaria sphaerica* se encontró dolicotelina, un alcaloide inusual que contrario a los alcaloides que predominan en las cactáceas, deriva del ácido isovalérico e histamina (Gottlieb, 1977; Grundon, 1977).

☪ *Mammillaria baumii* Boed

Estos cactus forman agrupamientos grandes con los tallos oscurecidos por las espinas. Globosos a ovoides de 7 cm de alto por 15 cm de diámetro, sus tubérculos son cilíndricos. Tiene de 5 a 11 espinas centrales con 30 radiales. Flores amarillas (Anderson, 2001; Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

Muchas tribus la usan ocasionalmente como un sacramento parecido al peyote. Algunos estudios han revelado presencia de alcaloides (Mesa, 2011).

Distribución: endémica de Tamaulipas, esta especie ha sido registrada en varios sitios del estado y generalmente creciendo bajo individuos de *Prosopis sp.*

Estado de conservación: LC (IUCN) y Pr (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

☪ *Mammillaria longimamma* DC

Cactus usualmente solitarios, pero con el tiempo se ramifican basalmente para formar pequeñas agrupaciones, tallo globoso que mide entre 8 y 15 cm de diámetro, tubérculos largos y extensamente separados, sus espinas radiales van de 8 a 10 y solo una central (Anderson, 2001; Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

De esta especie se aislaron por primera vez los alcaloides longimammosina, longimammatina, longimammamina y longimammidina. Algunos de estos, como longimammatina y longimammamina también se han encontrado en *Mammillaria uberiformis* (Ranieri y McLaughlin, 1975; Southon y Buckingham, 1989).

Existe un interés especial por estas tetrahydroisoquinolinas monooxigenadas ya que al ser estructuralmente diferentes a las reportadas anteriormente podrían ayudar a entender mejor su biosíntesis (Lundström, 1983; Ranieri y McLaughlin, 1975).

Distribución: ladera sur de la Sierra Gorda, desde Guanajuato, hasta la Barranca de Santiago en Veracruz, incluyendo registros en Querétaro e Hidalgo.

Estado de conservación: VU (IUCN) y A (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

☪ *Mammillaria mathildae* Kraehenb & Krainz

Cactus con tallos globosos de aproximadamente 5 cm, sus tubérculos son cilíndricos o romboides alargados, tienen 4 o 5 espinas centrales, son rojizas y solo una tiene forma de gancho, las demás son planas. Flores blancas o rosas de 2 cm de largo (Anderson, 2001; Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015; Meza, 2011).

Distribución: endémica de Querétaro.

Estado de conservación: EN (IUCN) y P (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

☪ ***Mammillaria melaleuca* Karw**

Plantas solitarias, su tallo es globoso y mide de 6 a 7 cm de diámetro. Tubérculos gruesos con una espina central, usualmente violácea, y de 8 a 9 radiales. Flores amarillas (Anderson, 2001; Hernández y Gómez-Hinostrosa, 2015).

Distribución: endémica de Tamaulipas, su presencia se encuentra restringida a una pequeña área al sudoeste del Valle de Jaumave.

Estado de conservación: EN (IUCN) y P (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

☪ ***Mammillaria senilis* Lodd**

Cactus globoso o cilíndrico con tubérculos robustos, tienen entre 4 y 6 espinas centrales con punta en forma de gancho, las espinas radiales son más delgadas y van de 30 a 40. Flores naranjas o rojas. Esta especie ha sido reportada como una de las plantas más poderosas utilizadas por la comunidad rarámuri donde la denominan “Híkuli rosapari”, sin embargo, se desconoce su contenido de alcaloides (Anderson, 2001; Bye, 1979; Rätsch, 2005).

Distribución: Chihuahua, Jalisco y Sinaloa.

Estado de conservación: LC (IUCN) y A (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

☪ ***Mammillaria standleyi* (Britton & Rose) Orcutt**

Cactus globoso con tubérculos cónicos y con látex. Tiene 4 espinas centrales color marrón rojizo y 16 radiales blancas. Flores purpura o rojas (Anderson, 2001).

Distribución: Chihuahua, Sinaloa y Sonora.

Estado de conservación: LC (IUCN). Se encuentra en el Apéndice II de CITES.

1.2.4.9. Obregonia

Esté género está formado solo por una especie (The Plant List, 2010).

☪ *Obregonia denegrii* Fric

Cactus globoso que se encuentra ligeramente aplanado, es decir, crece sobre el nivel del suelo. Carece de costillas y sus tubérculos tienen un arreglo en espiral con unión basal y terminación puntiaguda. Las areolas se encuentran en el ápice, es complicado distinguir entre espinas centrales y radiales. Flores apicales y diurnas (Anderson, 2001).

Aunque morfológicamente se parece a *Ariocarpus*, estudios moleculares sugieren que está cercanamente relacionado con el género *Lophophora*, no contiene mescalina, pero se han encontrado tiramina, *N*-metiltiramina y hordenina (Bruhn y Bruhn, 1973; Trout, 2013).

Distribución: Tamaulipas y Chihuahua.

Estado de conservación: EN (IUCN) y A (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice I de CITES.

1.2.4.10. *Pelecyphora*

El nombre de este género proviene del griego *pelekys* = hacha y *phoreus* = portador, refiriéndose a la forma de los tubérculos. Es una planta solitaria, cónico-cilíndrica, verde-grisácea y afelpada. Sus tubérculos están lateralmente aplanados, tienen un arreglo espiral y llevan espinas pectinadas, en forma de escamas. Areolas dimórficas. Sus flores son diurnas, apicales y llegan a medir 3 cm, perianto exteriormente blanco e internamente rojo o violeta (Anderson, 2001; Britton y Rose, 1963; Schultes y Hofmann, 2000).

Se reconocen 2 especies para este género y están distribuidas en Nuevo León, Tamaulipas y San Luis Potosí (The Plant List, 2010).

P. aselliformis es una de las especies consideradas como falso peyote, su ingestión produce efectos similares por lo que los chamanes suelen utilizarlo como sustituto. Existen reportes de presencia de trazas de mescalina, anhalidina y hordenina, *N*-metilmescalina, peyotina, 3-demetiltrichocerina, 3,4-dimetoxi- β -feniletilamina, 4-metoxifeniletilamina (Gottlieb, 1977; Neal *et al.*, 1972; Schultes y Hofmann, 2000).

☪ *Pelecyphora strobiliformis* Fric & Schelle

Tallo globoso de 4 o 6 cm de diámetro, tubérculos aplanados contra el tallo y de forma triangular. Tiene de 7 a 14 espinas. También es conocida como peyotillo, tal vez por una leve similitud morfológica con *Lophophora* o quizá por los efectos fisiológicos similares (Anderson, 2001).

Distribución: Chihuahua, Tamaulipas y San Luis Potosí.

Estado de conservación: LC (IUCN) y A (SEMARNAT). Se encuentra en el Apéndice I de CITES.

1.3. Cromatografía

La cromatografía es una técnica de separación basada en la diferencia de afinidad entre los componentes de una mezcla en dos fases inmiscibles, una fase es estacionaria, normalmente sólida y la otra móvil.

Existen diversos tipos, su clasificación se basa en la disposición de la fase estacionaria y el estado físico de fase móvil. La elección de la técnica a utilizar depende de las propiedades de solubilidad y volatilidad de los componentes que se quieren analizar (Miller, 2005).

1.3.1. Cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC)

En la cromatografía en capa fina (TLC) la fase estacionaria recubre el soporte, una placa de una fina capa de adsorbente, los más utilizados son sílice y alúmina, ambas de carácter polar, mientras que la fase móvil constituye el disolvente de desarrollo o eluyente (Beyer y Walter, 1987; Walton y Reyes, 2005).

La diferencia básica entre TLC y HPTLC es en el tamaño de partícula y del poro de la capa adsorbente. El uso de partículas pequeñas ayuda a tener una mejor resolución y sensibilidad (Reich y Schibli, 2006).

El análisis cuantitativo del desplazamiento se basa en el factor de retención (R_f), el cual se define como el cociente de la distancia que recorre el compuesto y la distancia del solvente (Joshi, 2012).

1.3.2. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-EIMS)

En la cromatografía de gases (GC) la fase estacionaria se encuentra cubriendo la superficie interior de un tubo de material inerte al que se le denomina columna, mientras que la fase móvil es un gas acarreador. Esta técnica se caracteriza por tener alta capacidad de separación, sensibilidad y selectividad en el análisis de compuestos volátiles. Sin embargo, algunas veces, los compuestos polares requieren una derivatización química para mejorar su volatilidad y estabilidad térmica.

El cromatógrafo de gases puede estar acoplado a un espectrómetro de masas para la identificación de los compuestos. El espectrómetro está formado por, una fuente de ionización, un separador, un analizador y un detector y colector de datos (Silverstein *et al.*, 2005).

En principio, las moléculas neutras en fase gaseosa que provienen del cromatógrafo son ionizadas para que se separen de acuerdo con su relación masa/carga (m/z). La ionización por impacto electrónico se da mediante la interacción de los analitos en fase gaseosa y una corriente de electrones de alta energía extraídos de un filamento, esto generalmente crea iones positivos con carga simple. Después de la ionización de la muestra, los iones pasan al analizador de masas, donde son separados de acuerdo con su relación masa/carga (m/z). Una forma de separarlos es mediante un cuadrupolo, el cual consta de cuatro barras paralelas donde se crea un campo eléctrico oscilante de alta frecuencia con cambios de voltaje (Hocart, 2010). Los iones separados que son detectados por un electromultiplicador se visualizan como un gráfico donde se muestra la abundancia de cada ion (m/z), a este histograma se le denomina espectro de masas. Estos patrones de fragmentación se utilizan para la elucidación de las estructuras.

1.4. Fingerprinting

Un fingerprinting (huella química) se puede definir como un conjunto de características cromatográficas o de señales espectroscópicas, cuya comparación permite un reconocimiento inequívoco de la muestra (Joshi, 2012).

Es una herramienta importante de control de calidad ya que se puede utilizar para distinguir entre dos especies estrechamente relacionadas, detectar adulteraciones o degradación. Con esto, también se puede generar una referencia y así caracterizar muestras desconocidas (Ciesla, 2012; Joshi, 2012).

La generación de estas huellas químicas puede ser considerada una de las aplicaciones dominantes de la cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC), esta técnica es eficiente, rápida, confiable, reproducible y la cantidad de muestra requerida es mínima. Además, proporciona información cualitativa y semicuantitativa (Ciesla, 2012; Joshi, 2012; Wagner y Bladt, 1996; Reich y Schibli, 2006).

Existen algunas modificaciones como los Biofingerprinting, donde se combinan los datos obtenidos de HPTLC y sobre esta misma placa se ensaya su actividad biológica, esto puede ser una alternativa para el descubrimiento de compuestos bioactivos presentes en una mezcla compleja (Ciesla, 2012).

Aunque el contenido de alcaloides fluctúa de individuo a individuo, por edad y factores bióticos y abióticos, hay compuestos característicos para cada especie por lo que se pueden considerar para la identificación química (Levin y York, 1978).

2. OBJETIVOS

2.1. General

Identificar y caracterizar alcaloides en especies de cactáceas mediante técnicas de cromatografía y espectrometría para generar su huella química (fingerprinting).

2.2. Específicos

- Optimizar el método de extracción de alcaloides.
- Realizar perfil de componentes mediante cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC).
- Confirmación de estructuras por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-EIMS).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la selección de especies se realizó una consulta bibliográfica, basándonos particularmente en los listados de Batis y Rojas, 2002; Bruhn y Bruhn, 1973; Meza, 2011; Schultes y Hofmann, 2000; Rättsch, 1998 y Trout, 2013.

3.1. Sitios de adquisición

Como se mencionó anteriormente la mayoría de las especies de la familia Cactaceae se encuentran en peligro de extinción, por tanto, en México están protegidas por Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 lo que dificulta su adquisición. Sin embargo, logramos conseguir 20 especies. Se realizó una visita al Jardín Botánico Regional de Cadereyta y al vivero la “La Biznaga Vagabunda”, ambos ubicados en Querétaro (Figura 8). El primero se trata de una institución enfocada al estudio, conservación y aprovechamiento de la flora mexicana del semidesierto queretano, por lo que se adquirieron solo 2 especies, mientras que el segundo se especializa en la propagación de cactáceas y suculentas tanto mexicanas como extranjeras, esto permitió la adquisición de las otras 18 especies. En ambos sitios las especies son previamente caracterizadas a nivel de especie.



Figura 8. Sitios de adquisición de las muestras biológicas.

A) Jardín Botánico Regional de Cadereyta y B) Vivero "La Biznaga Vagabunda", Ezequiel Montes.

3.1. Material biológico

Con base en los listados consultados y su disponibilidad, se adquirieron las siguientes especies: *Ariocarpus retusus*, *Astrophytum asterias*, *Astrophytum myriostigma*, *Coryphantha elephantidens*, *Coryphantha palmeri*, *Echinocactus grusonii*, *Echinocactus platyacanthus*, *Echinocereus cinerascens*, *Echinocereus scheeri*, *Echinocereus triglochidiatus*, *Echinopsis pachanoi*, *Epithelantha micromeris*, *Mammillaria baumii*, *Mammillaria longimamma*, *Mammillaria mathildae*, *Mammillaria melaleuca*, *Mammillaria senilis*, *Mammillaria standleyi*, *Obregonia denegrii* y *Pelecyphora strobiliformis*.

3.2. Obtención de extractos

Dado que el tamaño de la mayoría de los ejemplares adquiridos oscila entre 5 y 10 cm de diámetro, para la selección del método de extracción se utilizaron las especies más grandes. Para cada prueba se utilizaron 15 g de *Echinopsis pachanoi* y 10 g de *Mammillaria longimamma*, estos se despojaron de espinas para posteriormente ser fragmentados. La relación peso de tejido fresco/volumen de solvente siempre fue 1:10.

Método 1 (M1)

Las muestras se dejaron macerando en etanol absoluto (ACS-Karal) durante 48 h, transcurrido ese tiempo, las muestras se filtraron y el solvente se evaporó con un rotavapor (BÜCHI). Cada residuo se disolvió en 7.5 ml de agua destilada, posteriormente se les agregó hidróxido de amonio (ACS-Karal) hasta obtener un pH 10, finalmente se realizó una doble extracción con un volumen equivalente de cloroformo (ACS-J.T. Baker) y una tercera vez con una mezcla de cloroformo y etanol (3:1) (Bruhn *et al.*, 1978).

Método 2 (M2)

A las muestras se les agregó ácido clorhídrico al 10% y se dejaron durante 15 min en baño María, posteriormente se filtraron. Los residuos se lavaron con 10 ml de agua destilada y se agregó sulfato de sodio anhidro. Finalmente, se realizó una triple extracción con éter etílico. Todos los reactivos empleados en este método son marca ACS-Karal (El-Seedi *et al.*, 2005).

Método 3 (M3)

Las muestras se dejaron macerando en una solución de ácido acético (ACS-J.T. Baker) en etanol al 10% durante 4 h. Transcurrido ese tiempo, las muestras se filtraron y se concentraron a ¼ del volumen original con el rotavapor (BÜCHI). Posteriormente se agregó hidróxido de amonio (ACS-Karal) hasta alcanzar un pH 10. La extracción se realizó con un volumen equivalente de cloroformo (ACS-J.T. Baker) (Harborne, 1973).

Los extractos se llevaron a sequedad con el rotavapor (BÜCHI) y se les agregó 1ml de etanol absoluto (ACS-Karal) para su posterior análisis. La extracción de los demás ejemplares se realizó con el método que mostró mejores resultados.

3.3. HPTLC

La aplicación de las muestras se realizó con el equipo Automatic TLC Sampler 4 (ATS 4), mientras que la obtención de imágenes fue con TLC Visualizer, el cual se encuentra conectado a el software visionCATS para su análisis, ambos de la marca CAMAG.

Los extractos iniciales se aplicaron sobre placas TLC Silica gel de Aluminio F₂₅₄ (Sigma-Aldrich) y se probaron 3 sistemas de solventes:

- Cloroformo:n-butanol:Hidróxido de amonio (50:50:2)
- Cloroformo:Metanol:Hidróxido de amonio (82:17:1)
- Metanol:Hidróxido de amonio (98:1)

Los extractos posteriores se aplicaron sobre placas HPTLC Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck) y se desarrollaron con el sistema de solventes que mostró mejor separación de los componentes de interés.

Las placas se realizaron por duplicado ya que se utilizaron dos reactivos cromógenos, ninhidrina, que reacciona con aminoácidos y aminas alifáticas primarias o secundarias y dragendorff, específico para aminas metiladas (Hashimoto, 1988; Smith, 1977), los cuales se prepararon de la siguiente manera (Reich y Schibli, 2006; Wagner y Bladt, 1996). Los mecanismos de reacción de estos compuestos se encuentran descritos en los Anexos 1 y 2.

- Ninhidrina: 300 g de ninhidrina (Sigma-Aldrich) se disolvieron en 100 ml de etanol absoluto y posteriormente se agregaron 3 ml de ácido acético.
- Dragendorff: 20 g de ácido tartárico (ACS-Karal) se disolvieron en 100 ml de agua y posteriormente se agregaron 10 ml de solución stock.
Para la solución stock se disolvieron 0.85 g de nitrato de bismuto (Sigma-Aldrich), 10 g de ácido tartárico y 8 g de yoduro de potasio (Merck) en 70 ml de agua.

La derivatización fue por inmersión, en el caso de la ninhidrina, la placa se calienta a 100°C durante 15 min sobre TLC plate heater III, CAMAG.

3.4. GC-EIMS

Las muestras fueron analizadas por un cromatógrafo de gases 7890A, con columna DB-1MS-Ultra inerte (60 m x 250 μm de diámetro x 0.25 μm), la cual se encuentra acoplado a un espectrómetro de masas 5975C con ionización por impacto electrónico, separación por cuadrupolo y detección por triple eje, todos de la marca Agilent Technologies. La temperatura del inyector fue de 250°C, la de la fuente de ionización de 230°C y la de la columna fue retenida durante 2 minutos en 40°C y se aumentó hasta 260°C (10°C/min). El volumen de inyección de la muestra fue de 1 μl con un flujo total de helio de 24 ml/min y una presión de 16.086 psi. Se utilizó un rango de barrido de 50-400 m/z .

La derivatización por silanización es una herramienta ampliamente utilizada para mejorar la volatilidad y estabilidad térmica de los compuestos presentes en los extractos ya que al reaccionar con grupos OH o NH facilita su separación en GC. Después de la inyección de los extractos, 100 μl de cada muestra se llevaron a sequedad con N_2 y posteriormente se agregaron 80 μl de *N*-O-Bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida con trimetilclorosilano (BSTFA-Sigma Aldrich) y 20 μl de piridina (ACS-Karal), se incubaron a 80°C durante 30 min y finalmente se agregaron 100 μl de isooctano para su inyección en GC-EIMS.

Los cromatogramas obtenidos se procesaron con el programa AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution) y posteriormente el espectro de masas del compuesto de interés se comparó con la base de datos NIST11 (Mass Spectral Data Base) para su identificación.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis comparativo para la selección del método de extracción se realizó mediante TLC y GC-EIMS. Con el método de extracción 2 no se logró obtener ningún compuesto de interés, por lo que no se mostraran resultados de este.

Como se muestra en la Figura 9, mediante TLC no se pudo determinar el mejor método de extracción, tanto el método 1 como el 3 muestran el mismo perfil para cada especie (*Echinopsis pachanoi* y *Mammillaria longimamma*), sin embargo, con esta comparación se pudo observar que el sistema de solventes B es el óptimo para la separación de los alcaloides.

En la Figura 10, se puede observar que en *E. pachanoi* es más evidente la diferencia en el número de señales dependiendo del método de extracción. Al analizar cada pico del cromatograma, se identificaron 5 posibles alcaloides con el método 3, mientras que con el método 1 solo fueron 2 compuestos. Crosby y McLaughlin, 1973 reportaron la presencia de mescalina en esta especie, la cual solo se pudo identificar en el extracto obtenido por el método 3. Por tal motivo, éste fue el elegido para las extracciones de las demás cactáceas.

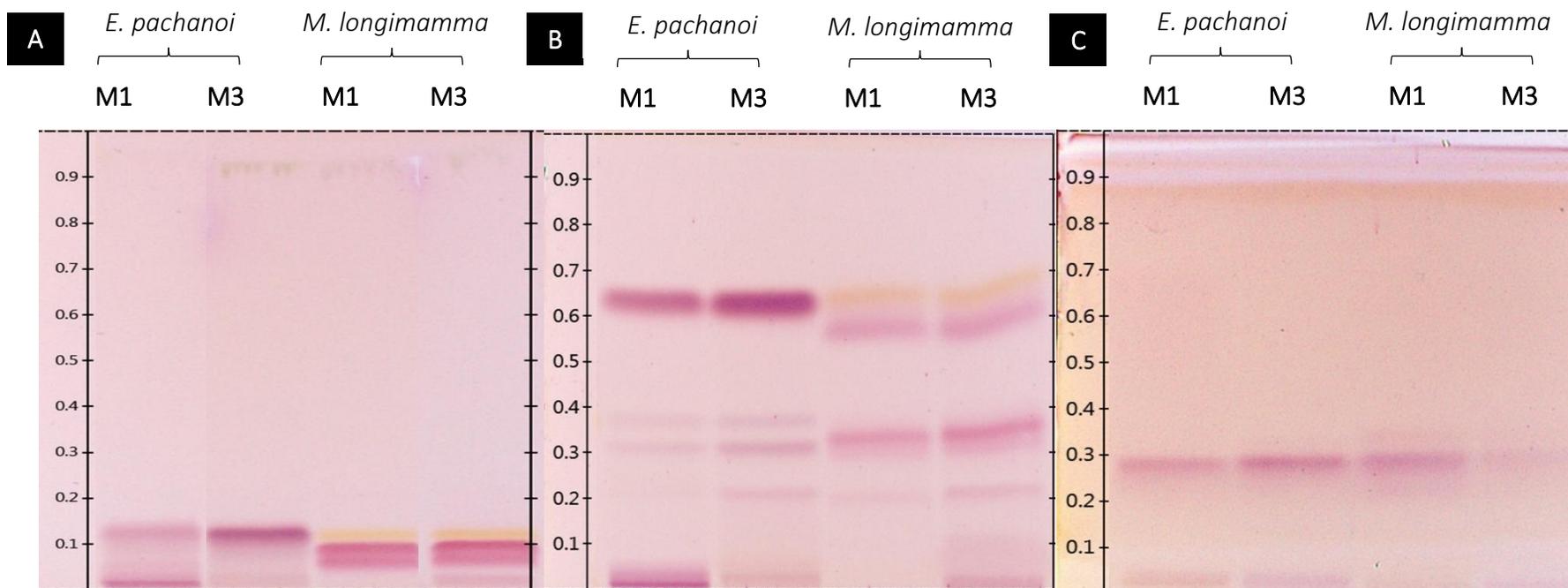


Fig. 9. Comparación del perfil de alcaloides en función del método de extracción y sistema de solventes.

Placas TLC Si gel Al F₂₅₄ de extractos de *Echinopsis pachanoi* y *Mammillaria longimamma* obtenidos mediante dos métodos de extracción, M1 descrito por Bruhn *et al.*, 1978 y M3 por Harborne, 1973. Desarrollados con 3 sistemas de solventes, A) CHCl₃-C₄H₁₀O-NH₄OH [50:50:2], B) CHCl₃-CH₃OH-NH₄OH [82:17:1] y C) CH₃OH-NH₄OH [98:1]. Derivatización con ninhidrina y observación con luz blanca.

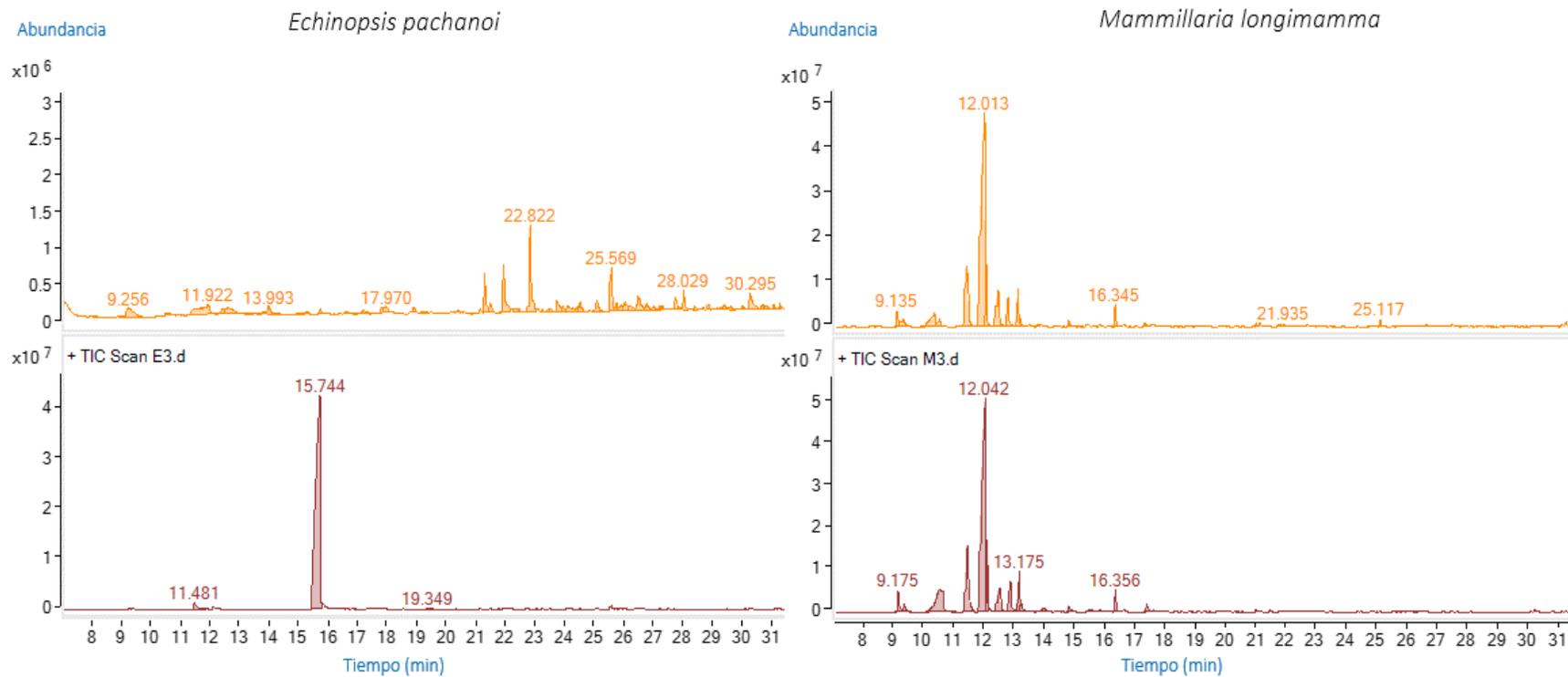


Figura 10. Comparación de cromatogramas de los extractos de cactáceas en función al método de extracción.

Los cromatogramas de la parte superior corresponden al método de extracción 1 y los de la parte inferior al método 3.

4.1. TLC y HPTLC de extracto crudo

Una vez estandarizada las técnicas, se realizó la extracción de alcaloides en las 20 especies y posteriormente fueron analizados mediante TLC y GC-EIMS. No se mostrarán resultados de *Ariocarpus retusus*, *Astrophytum asterias*, *Astrophytum myriostigma*, *Obregonia denegrii* y *Pelecyphora strobiliformis*, ya que no se observaron alcaloides.

En las imágenes posteriores se utilizará la siguiente nomenclatura:

Ep = <i>Echinopsis pachanoi</i>	Ms = <i>Mammillaria senilis</i>	Ec = <i>Echinocereus cinerascens</i>
Ml = <i>Mammillaria longimamma</i>	Mst = <i>Mammillaria standleyi</i>	Et = <i>Echinocereus triglochidiatus</i>
Mb = <i>Mammillaria baumii</i>	Ce = <i>Coryphantha elephantidens</i>	Em = <i>Epithelantha micromeris</i>
Mth = <i>Mammillaria mathildae</i>	Cp = <i>Coryphantha palmeri</i>	Ept = <i>Echinocactus platyacanthus</i>
Mm = <i>Mammillaria melaleuca</i>	Eg = <i>Echinocactus grusonii</i>	Es = <i>Echinocereus scheeri</i>

En la Figura 11 se puede observar que todos los extractos tienen presencia de compuestos nitrogenados, algunos con mayor diversidad como en *Mammillaria mathildae* (Mth) o algunos en mayor concentración como en *Coryphantha elephantidens* (Rf= 0.37). También es posible identificar que todas las especies del género *Mammillaria* tienen un compuesto en común que se ubica en Rf= 0.35, sin embargo, cada especie muestra un patrón característico. Las últimas 3 muestras (Em, Ept y Es), no tuvieron un buen desarrollo debido a la gran cantidad de carbohidratos que contenían los extractos.

Para analizar qué especies contienen realmente alcaloides y no solo compuestos nitrogenados, los 16 extractos se inyectaron a GC-EIMS.

En las especies, *Echinocereus cinerascens*, *Echinocereus scheeri*, *Echinocereus triglochidiatus*, *Epithelantha micromeris*, *Echinocactus platyacanthus*, *Mammillaria standleyi* y *Mammillaria senilis*, no se encontraron alcaloides, entre sus componentes destacan aminas, lo que explica la gran cantidad de compuestos nitrogenados que se observan en su perfil por TLC (Figura 11).

Por lo tanto, a partir de ahora solo se mostrarán resultados de las 8 especies que tuvieron estos metabolitos (Figura 12).

La ausencia de estos compuestos en las plantas adquiridas puede deberse a diversos factores como, edad, condiciones bióticas y abióticas durante su desarrollo o identificación taxonómica errónea.

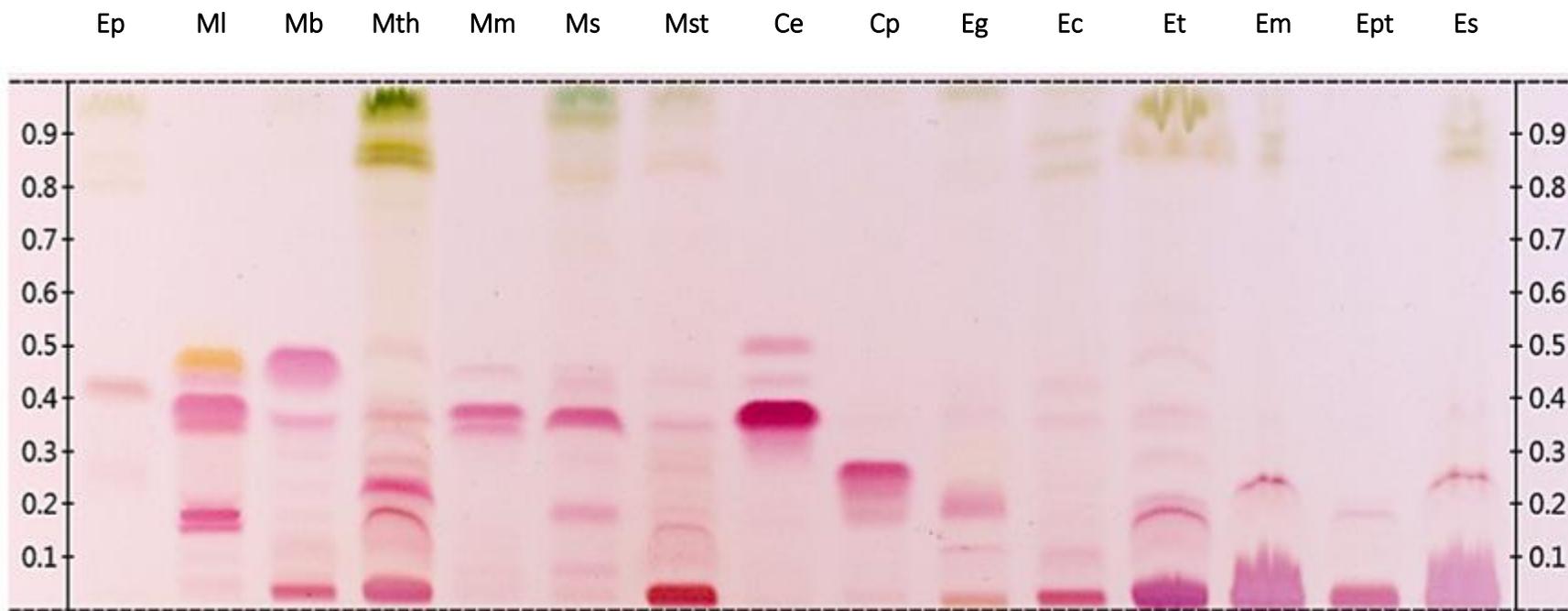


Figura 11. Perfil de alcaloides en extracto crudo de cactáceas, derivatizado con ninhidrina.

TLC observada bajo luz blanca.



Figura 12. Especies de cactáceas con presencia de alcaloides.

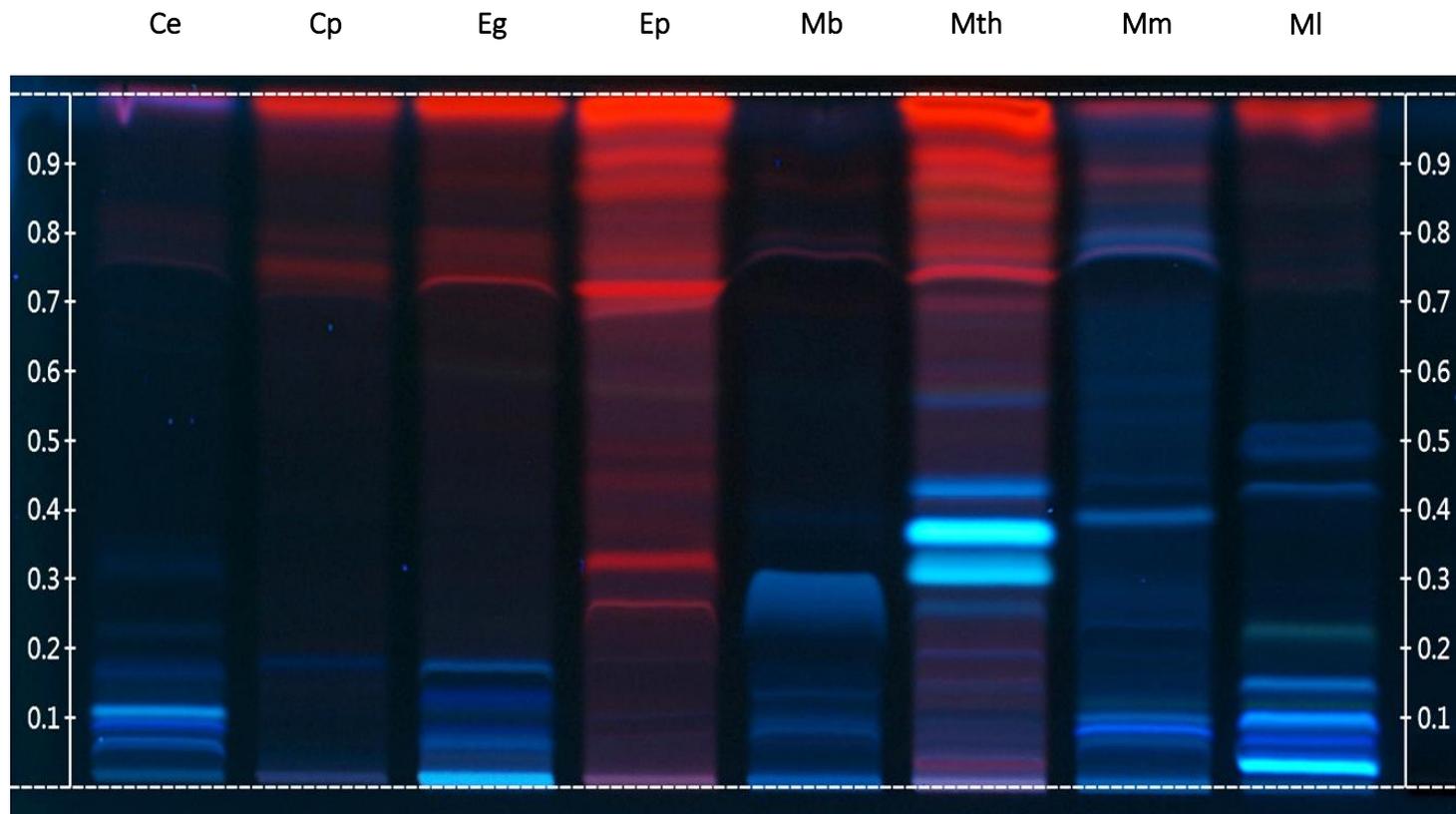


Figura 13. HPTLC de alcaloides en extracto crudo de cactáceas.

Bajo luz UV de onda corta se observa una gran cantidad de bandas, estas corresponden a compuestos que absorben a 366nm y emiten en luz visible, lo que es un indicativo de estructuras aromáticas.

Además, se observa que, aunque cada especie presenta un perfil característico, existen algunos compuestos en común, por ejemplo, $R_f = 0.19$ está presente en *Coryphantha elephantidens*, *Coryphantha palmeri* y *Echinocactus grusonii*, mientras que en $R_f = 0.44$ en *Mammillaria mathildae*, *Mammillaria melaleuca* y *Mammillaria longimamma*.

4.2. Cromatogramas y espectros de masas obtenidos mediante GC-EIMS

Para la identificación de los compuestos presentes en los extractos de las cactáceas, se inyectaron en GC-EIMS. Cada cromatograma se procesó con el programa AMDIS (Automated Mass Spectral Deconvolution) y posteriormente el espectro de masas del compuesto de interés se comparó con la base de datos NIST11 (Mass Spectral Database, 2011 US Department of Commerce).

Al analizar los espectros de masas de los picos, $R_t = 20.385$ y 21.259 (Figura 14) y compararlos con la biblioteca NIST, se identificaron como 3,4-dimetoxi-*N*-metilfeniletilamina y *N,N*-dimetil-trimetil-éter-norepinefrina, respectivamente. Esta comparación mostró un grado de similitud (Match) superior a 900 y ya han sido reportados para esta especie (Keller, 1980; Trout, 2013), por lo que no se justificará su patrón de fragmentación.

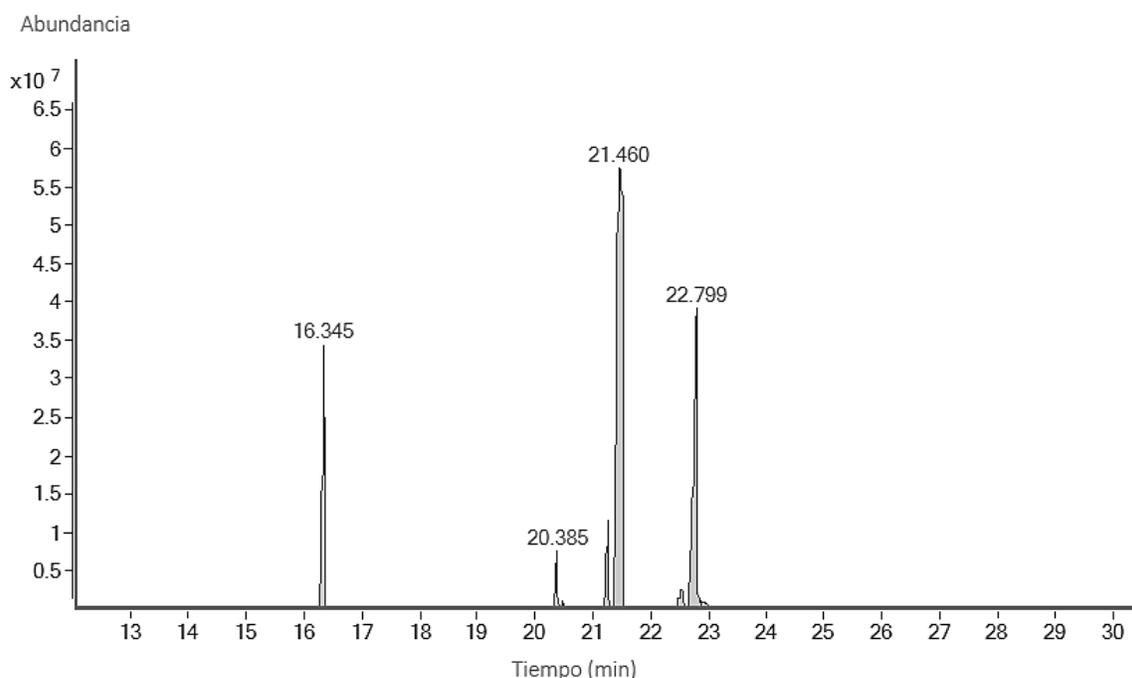


Figura 14. Cromatograma de extracto de *Coryphantha elephantidens*

En cuanto, al compuesto más abundante ($R_t = 21.460$), su patrón de fragmentación no se encuentra reportado en la biblioteca NIST, pero con base en sus iones mayoritarios se identificó como macromerina. Below, 1968 reportó el patrón de fragmentación de este alcaloide, $m/z = 207, 192, 181, 167, 166, 165$ y 151 . Estos fragmentos coinciden con los del compuesto de interés (Figura 15). La macromerina fue aislada por primera vez de *C. macromeris* y ha sido encontrado en otras especies de este género.

Los compuestos correspondientes a $R_t = 16.354$ y $R_t = 22.799$ no se lograron identificar, pero ambos tienen peso molecular impar; esto es un indicativo de que tienen nitrógeno en su estructura por lo que podrían ser alcaloides.

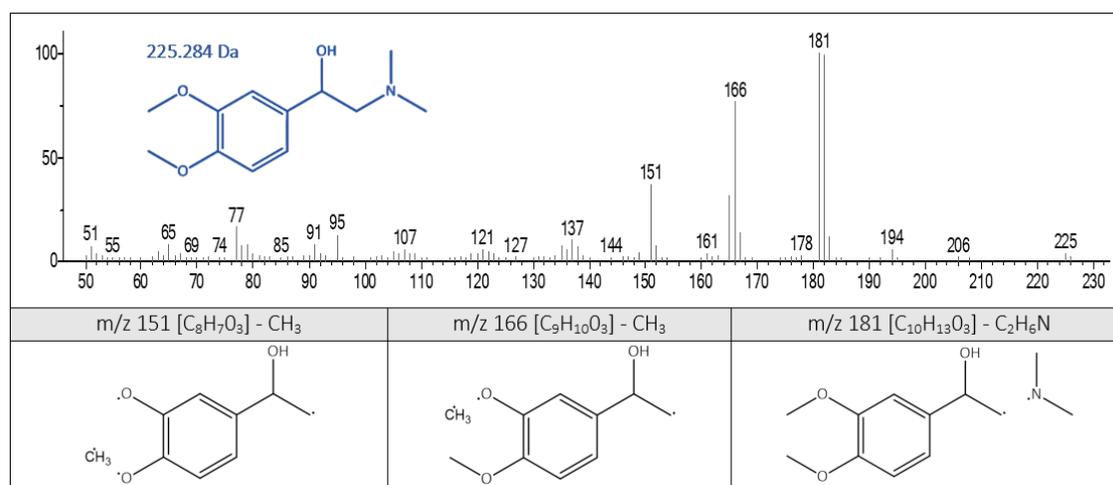


Figura 15. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de macromerina.

Los iones principales corresponden a la pérdida de dimetilamida (m/z 181) y dos grupos metilo (m/z 166 y m/z 151).

En la Figura 16 solo se observa un pico, al comparar su espectro de masas con la biblioteca NIST, se identificó *N,N*-dimetil-dimetil-éter-dopamina ($R_t = 18.834$) pero, mostró un grado de similitud bajo. Por lo que esta estructura se confirmó mediante el extracto silanizado, donde se observa un aumento de 73 unidades en el peso molecular, lo cual corresponde al trimetilsilil en un sustituyente NH (Anexo 3).

También se identificó un compuesto a $R_t = 18.789$, la biblioteca lo identifica como 3-hidroxi-*N*-metilfeniletilamina, pero no coincide su peso molecular, por lo que se requiere averiguar si se trata de alguna modificación de este alcaloide.

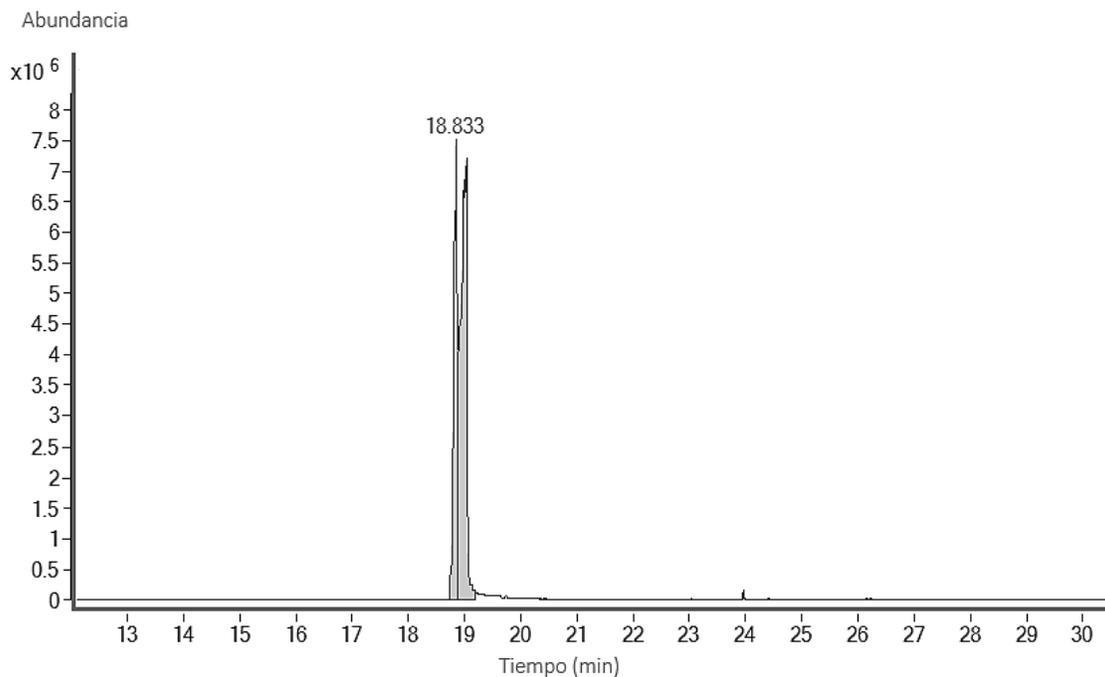


Figura 16. Cromatograma de extracto de *Coryphantha palmeri*

En el extracto de *E. grusonii* (Figura 17) solo se observa un pico a un tiempo de retención de 19.451, el cual corresponde a hordenina. Al comparar el compuesto de extracto con la biblioteca NIST muestra un grado de similitud de 858.

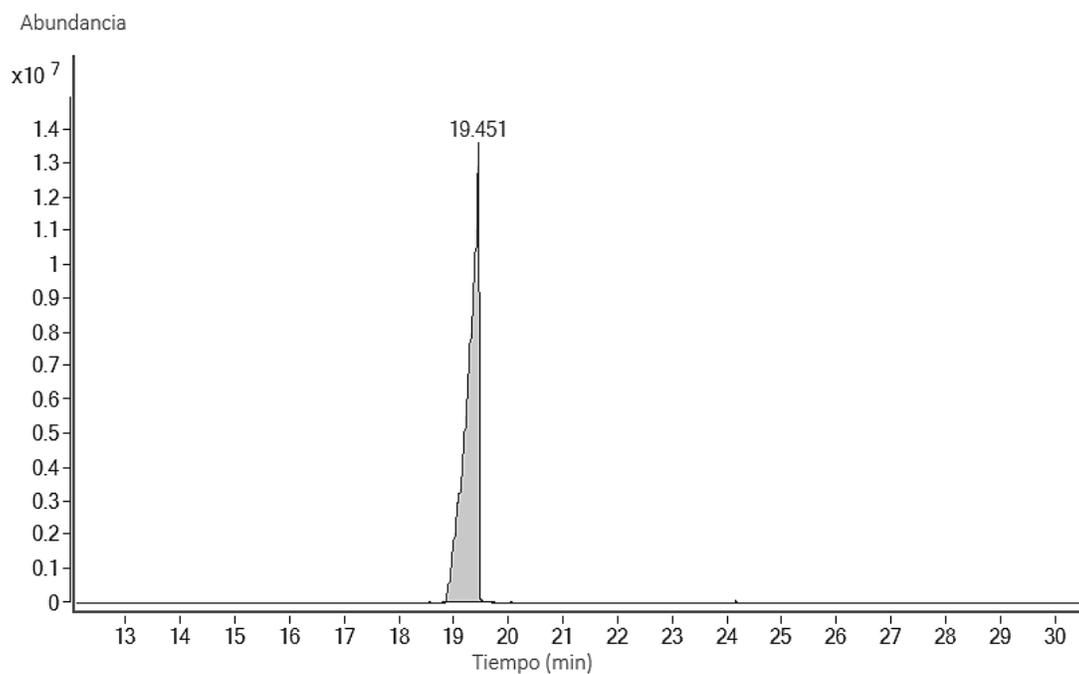


Figura 17. Cromatograma de extracto de *Echinocactus grusonii*

La hordenina es una molécula muy sencilla por lo que solo muestra dos fragmentos principales (Figura 18).

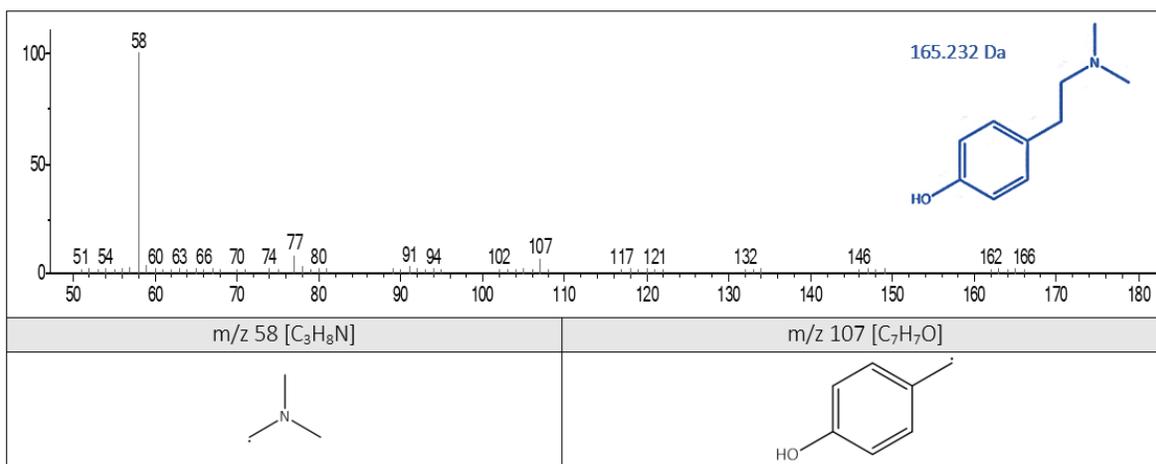


Figura 18. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de hordenina.

Los iones principales corresponden a la formación de dos moléculas, m/z 107 4-metilfenil-oxidanil y un radical dimetilamino-metil (m/z 58).

El patrón de fragmentación del pico mayoritario de la Figura 19 indica que se trata de mescalina. Esta feniletilamina ya ha sido reportada como el alcaloide mayoritario de este cactus (Crosby y McLaughlin, 1973). Helmlin *et al.*, 1992 reportaron el patrón de fragmentación, $m/z = 211, 182, 181, 167, 151$ y 148 , el cual coincide con los fragmentos observados (Figura 20).

A pesar de que no es posible observarlos en el cromatograma por su baja abundancia, también se encontraron 3-metoxitiramina ($R_t = 19.633$), 3,4-dimetoxi-feniletilamina ($R_t = 19.845$) y N-acetil mescalina ($R_t = 25.498$), la comparación de su patrón de fragmentación con la base NIST muestra un grado de similitud de 883, 922 y 875 respectivamente. La presencia de estos compuestos en esta especie fue reportada por Lundström en 1983.

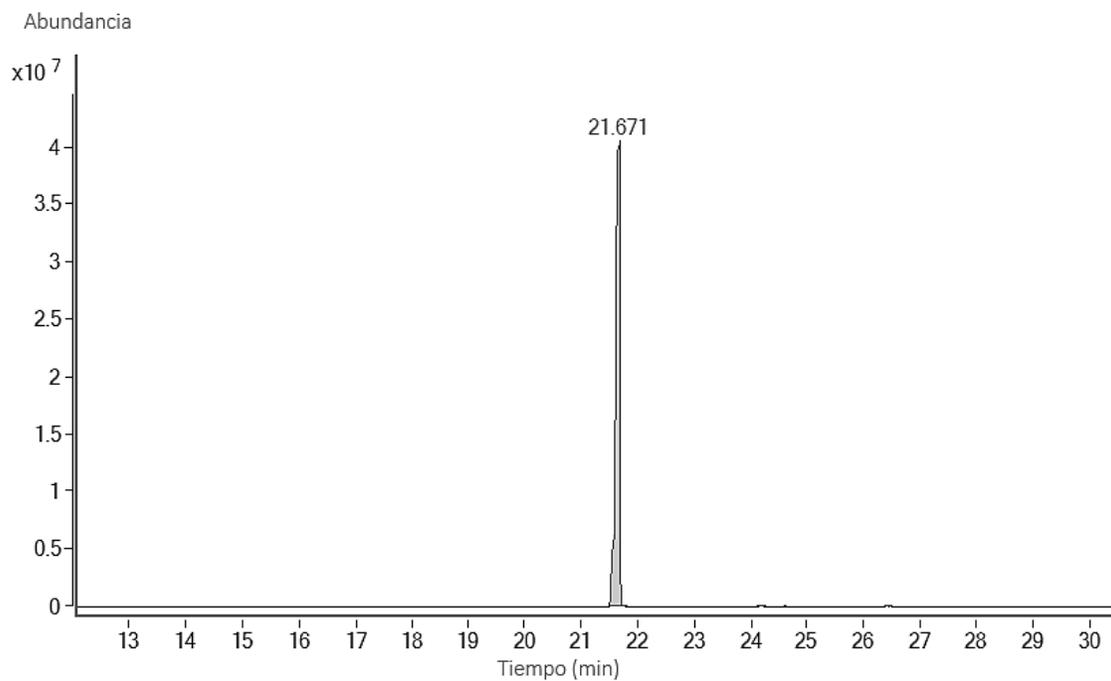


Figura 19. Cromatograma de extracto de *Echinopsis pachanoi*

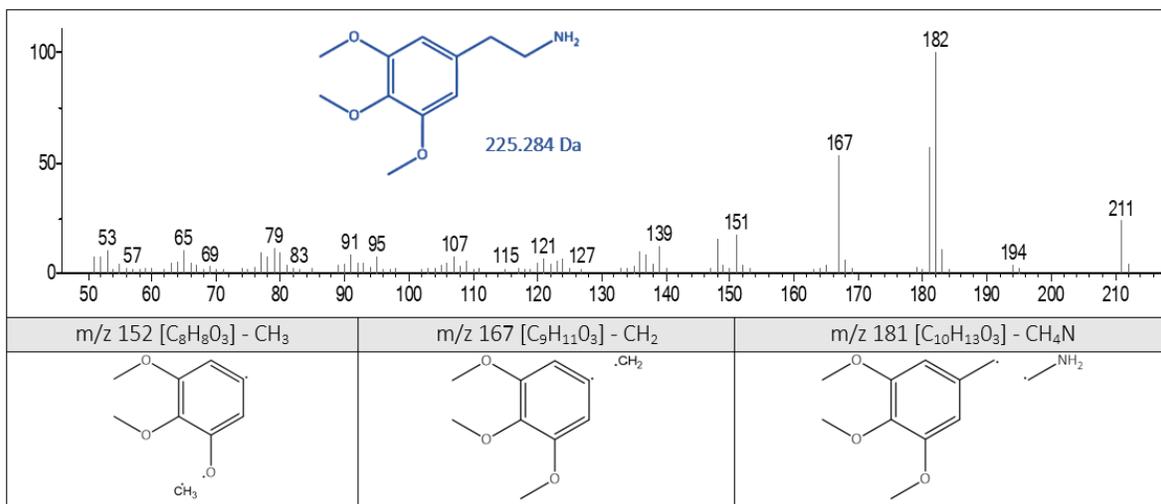


Figura 20. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de mescalina.

Los iones principales corresponden a la pérdida de metilamida (m/z 181), metileno (m/z 167) y metilo (m/z 152).

En los cromatogramas de la Figura 21 se puede observar que la mescalina solo se encuentra en el clorénquima, lo cual coincide con lo reportado anteriormente para otras especies.

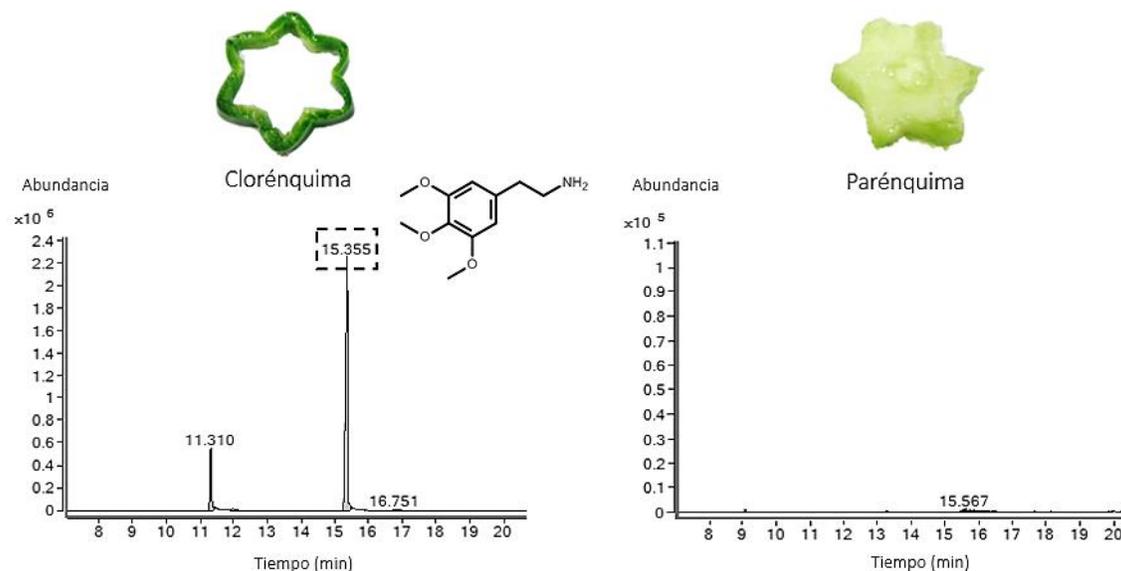


Figura 21. Localización de mescalina en tejidos de *Echinopsis pachanoi*

En la Figura 22 se pueden observar 2 picos principales. La comparación del espectro de masas del compuesto a $R_t = 17.883$ con la biblioteca NIST muestra un grado de similitud de 871 y lo identifica como 4-metoxi-anfetamina, en la figura 23 se muestra su patrón de fragmentación.

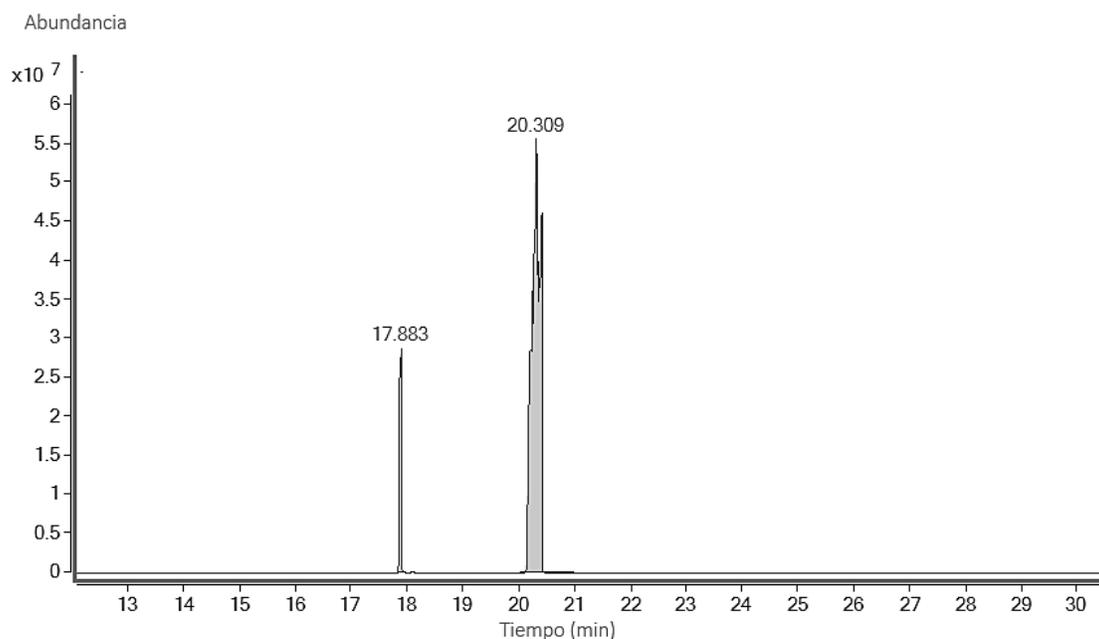


Figura 22. Cromatograma del extracto de *Mammillaria baumii*

El compuesto que corresponde a $R_t = 20.309$ no se logró identificar posiblemente se trate de una modificación de 3,4-dimetoxi-*N*-metilfeniletilamina, ya que su ion molecular presenta un incremento de 16 unidades.

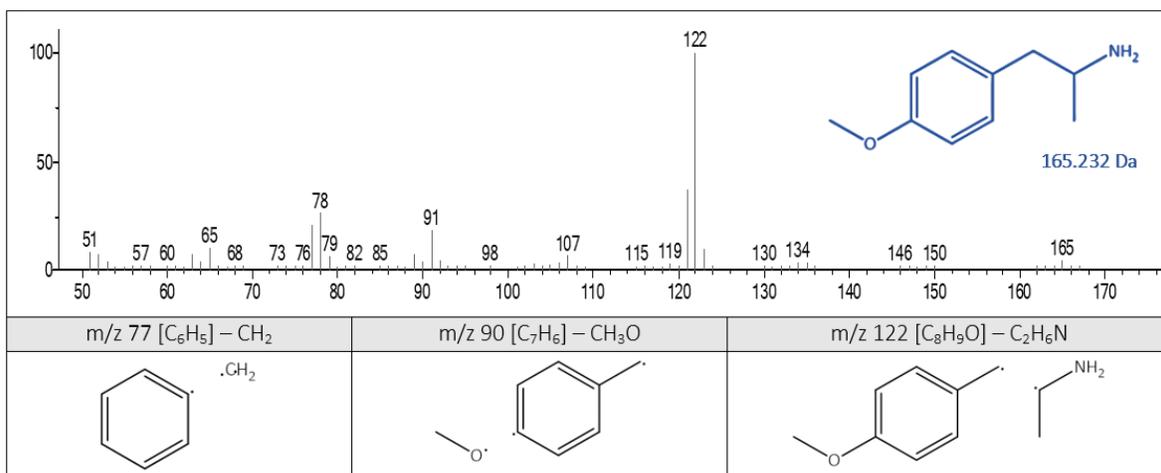


Figura 23. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de 4-metoxianfetamina.

Los iones principales corresponden a la pérdida de dimetilamida (m/z 122), de un grupo metoxi (m/z 90) y metileno (m/z 77).

En el extracto de esta *Mammillaria longimamma* (Figura 25) se identificaron 6 alcaloides, a diferencia de los demás cactus, en esta especie se encontraron tetrahydroisoquinolinas, como longimammatina ($R_t = 19.749$) y longimamosina ($R_t = 20.177$). También hubo presencia de *N*-metil-feniletilamina ($R_t = 14.457$), 3-metoxianfetamina ($R_t = 17.838$) y 3,4-dimetoxi-*N*-metil feniletilamina ($R_t = 20.326$).

De las tetrahydroisoquinolinas antes mencionadas, solo longimamosina (6,7-dimetoxi-2-metil-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina) se encuentra en la base de datos NIST (Figura 24).

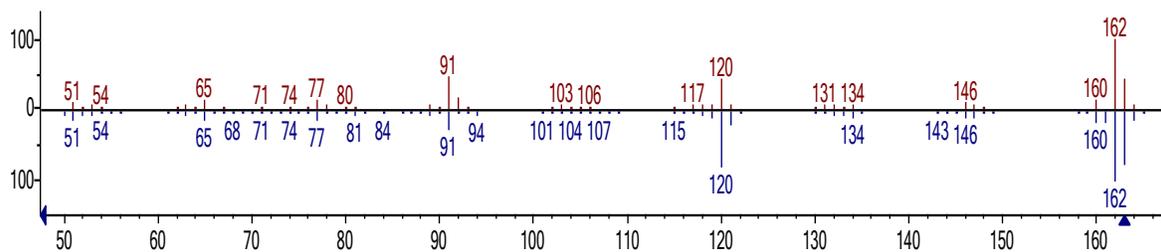


Figura 24. Comparación del espectro de masas de longimamosina.

Base de datos NIST (azul) vs. compuesto de interés (rojo).

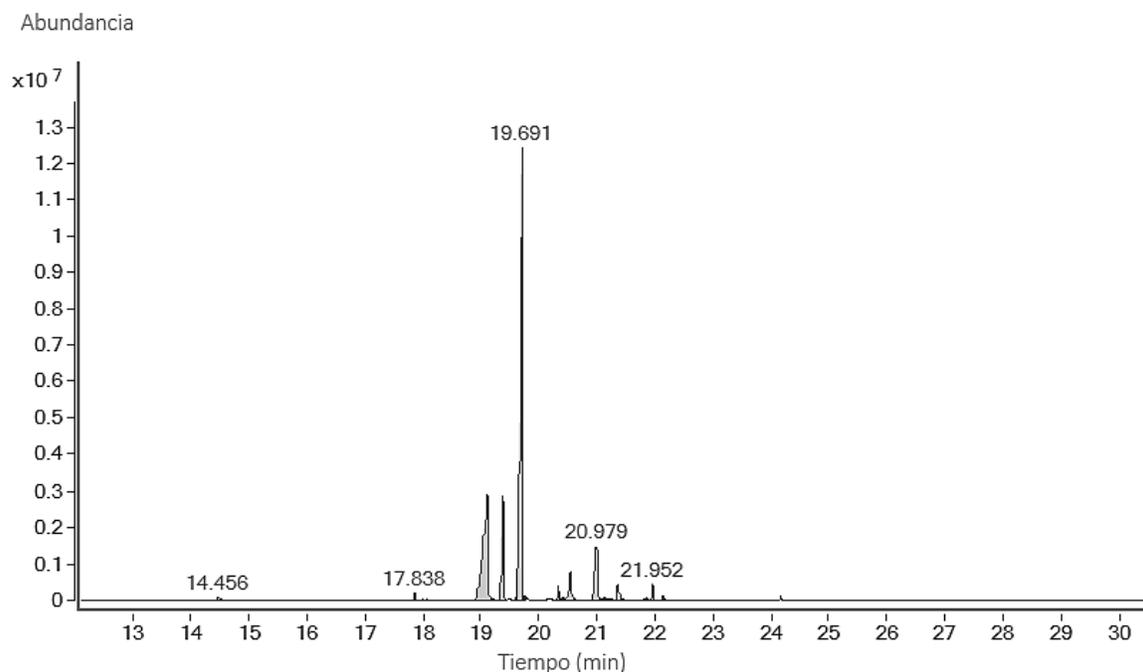


Figura 25. Cromatograma de extracto de *Mammillaria longimamma*.

Longimammatina no se encuentra en la base de datos, pero Ranieri y McLaughlin, 1975 reportan que los fragmentos característicos de esta tetrahydroisoquinolina son $m/z= 162$, 134 y 163 los cuales coinciden con el compuesto encontrado (Figura 26).

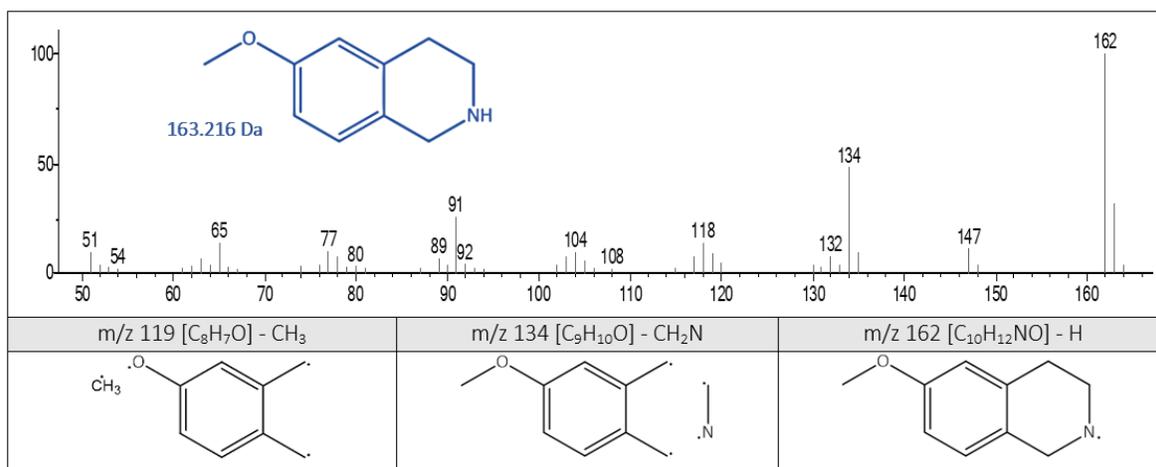


Figura 26. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de longimammatina.

El compuesto mayoritario ($R_t= 19.691$) no se logró identificar, pero por el fragmento m/z 134, podría tratarse de longimammamina o alguna modificación de esta tetrahydroisoquinolina.

Los espectros de masas de las feniletilaminas muestran un grado de similitud superior a 900, por lo que no se realizará la justificación de sus fragmentos principales.

En la Figura 27 se puede observar un cromatograma complejo, sin embargo, al analizar el espectro de masas de cada pico y compararlos con la biblioteca NIST solo se identificaron hordenina (Rt= 18.835), su patrón de fragmentación se muestra en la Figura 18, y etilefrina (Rt= 21.032). A partir de los 23 min solo se encuentran ácidos grasos y plastificantes.

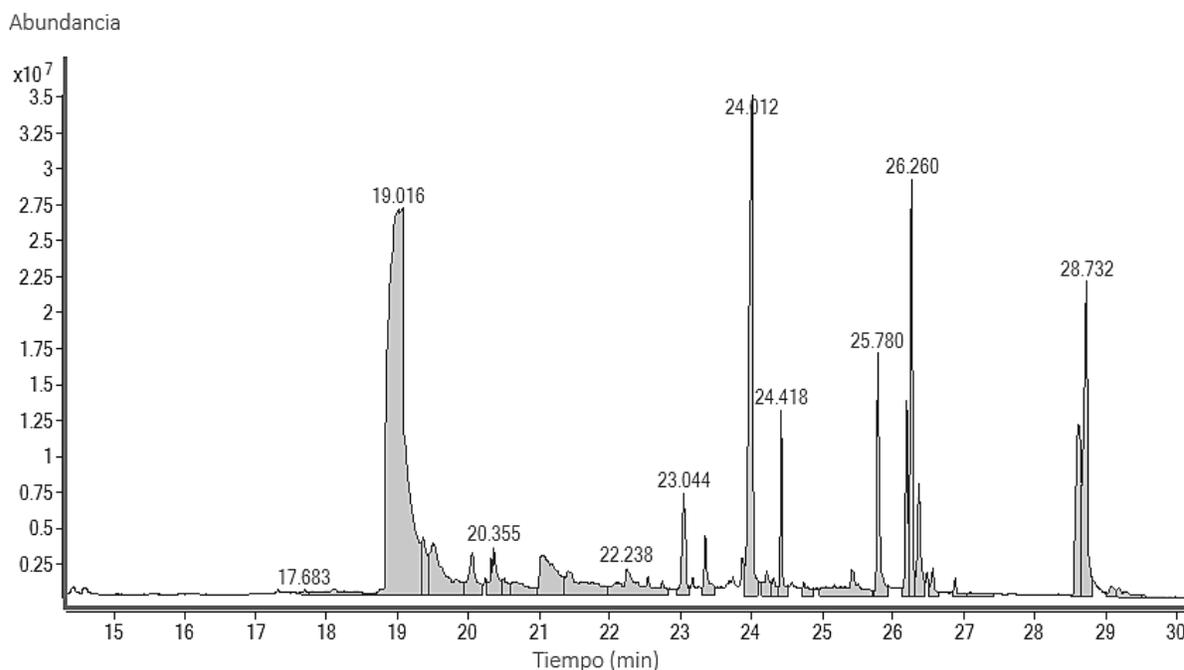


Figura 27. Cromatograma de extracto de *Mammillaria mathildae*.

En el extracto de *Mammillaria melaleuca* se observan 4 picos principales (Figura 28). El primero corresponde a efedrina (Rt= 16.996), al comparar el espectro de masas de este compuesto con la biblioteca NIST mostró un grado de similitud de 876, sus fragmentos principales se muestran en la Figura 29.

Adicionalmente, la presencia de efedrina se confirmó mediante la silanización del extracto (Anexo 4), donde se observa dicho compuesto con un aumento de 73 unidades sobre su peso molecular, que corresponde al trimetilsilil, en el sustituyente OH (Figura 30).

Aunque este alcaloide se encontró en el género *Ephedra* (Gymnospermae) también se ha aislado en especies de Angiospermae, como *Sida cordifolia*, *Catha edulis* y *Pinellia ternata*

(Pereira *et al.*, 2013). Sin embargo, la presencia de este compuesto en cactáceas no estaba reportada.

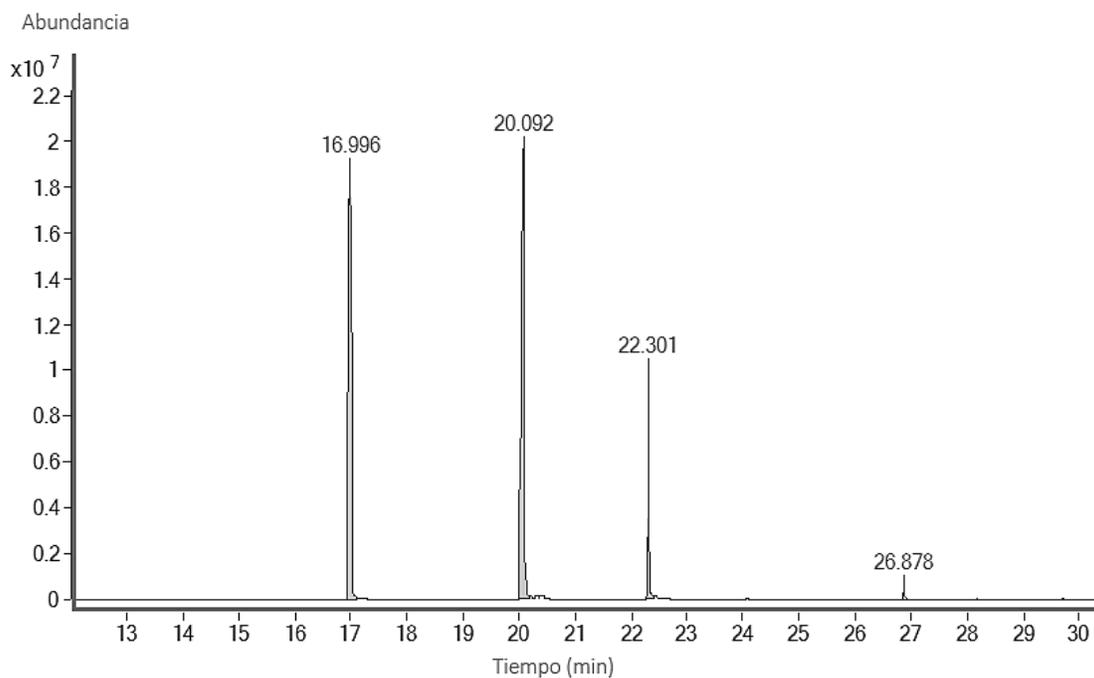


Figura 28. Cromatograma de extracto de *Mammillaria melaleuca*.

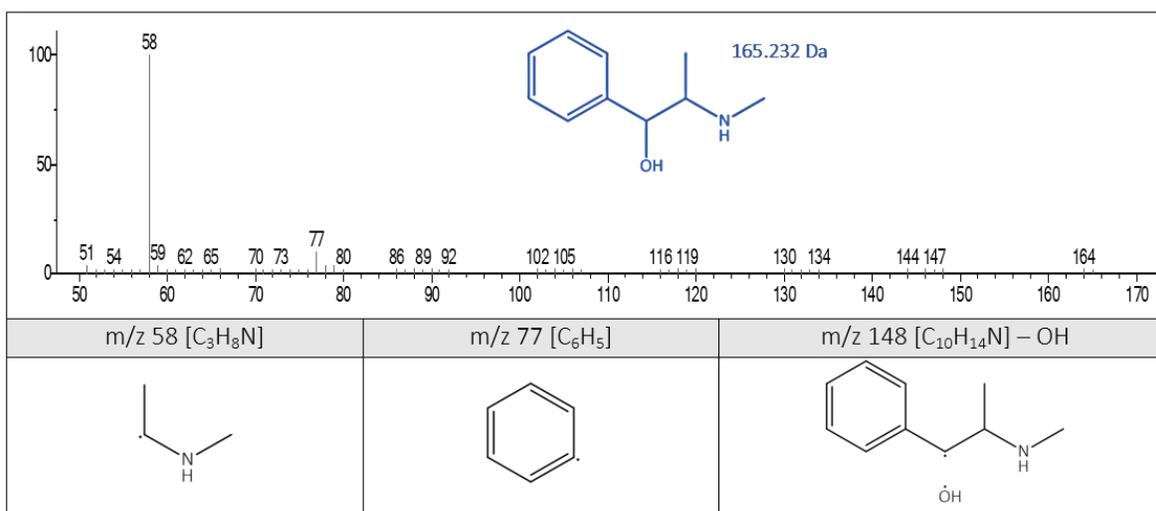


Figura 29. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de efedrina.

Los iones principales corresponden a la pérdida de un grupo hidroxilo (m/z 148) y a la formación de dos moléculas, un bencil (m/z 77) y un radical N-metiletanamina (m/z 58).

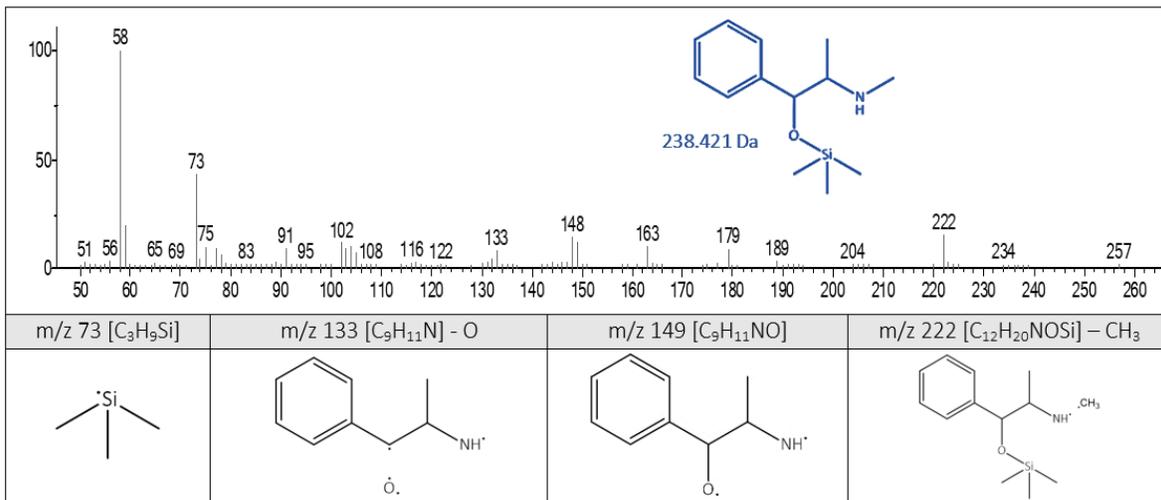


Figura 30. Iones mayoritarios en el patrón de fragmentación de efedrina silanizada.

En la Figura 28 se pueden observar otros picos con elevada abundancia, sin embargo, no lograron identificarse. Al comparar sus espectros de masas con la biblioteca NIST los identifica como *N,N*-dimetil-metil-éter-tiramina ($R_f = 20.092$), *N,N*-dimetil-dimetil-éter dopamina (20.390) y *N,N*-dimetil-trimetil éter-norepinefrina ($R_f = 22.301$), pero su grado de similitud es de 776, 794 y 745 respectivamente, Los patrones de fragmentación de estas moléculas no proporcionan mucha información, el único fragmento que presentan es $m/z = 58$, el cual corresponde a una amida, lo que dificulta su identificación. Las estructuras que propone la biblioteca NIST para estos compuestos no tienen $[H]^+$ libres, por lo que la silanización tampoco sirvió para confirmarlas.

En la parte de anexos se muestra una lista completa de compuestos para cada especie. (Anexo 5 a 12).

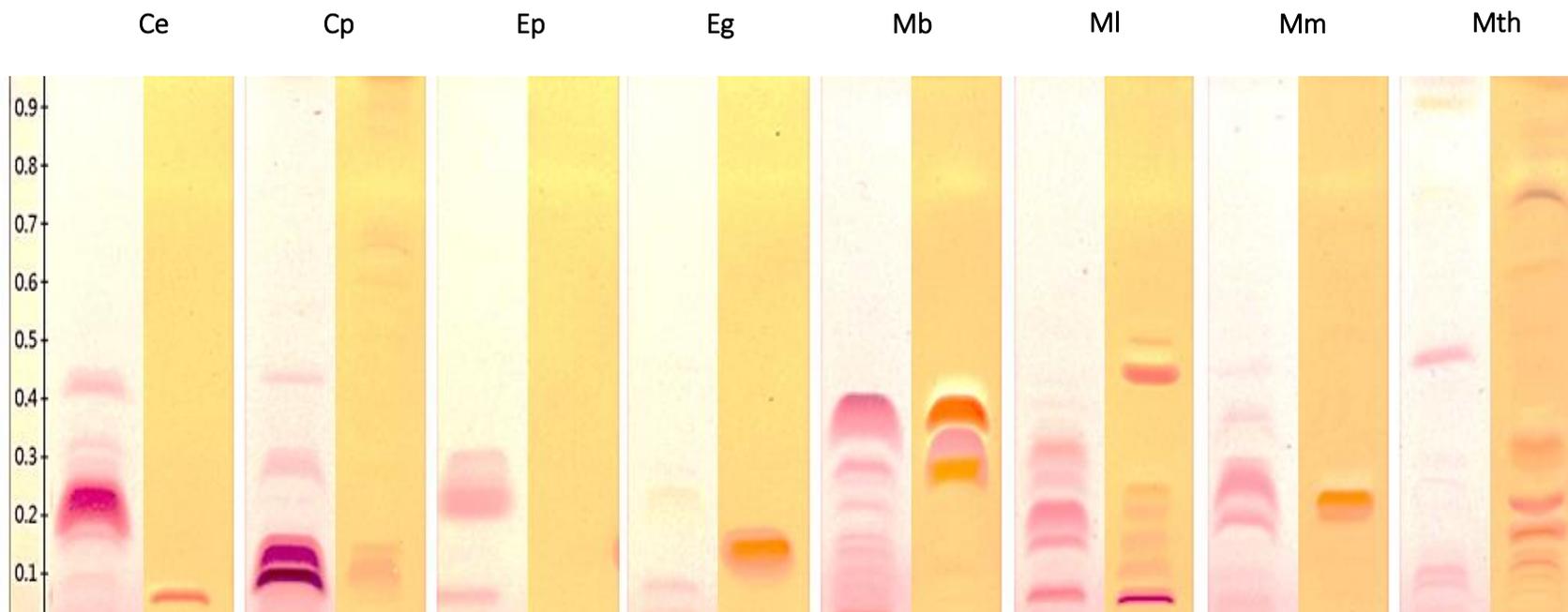


Figura 31. Comparación de perfil de alcaloides en función del sistema de revelado.

HPTL derivatizada con ninhidrina (1er carril) y dragendorff (2do carril)

Se puede observar que solo algunos compuestos se pueden identificar con ambos reveladores. Como se mencionó anteriormente estos reveladores reaccionan con diferentes tipos de aminas, por lo que se podrían considerar reactivos complementarios. Por ejemplo, en *Echinopsis pachanoi* (Ep) se identificó mescalina como alcaloide mayoritario y con el reactivo dragendorff no se visualiza ninguna banda. Mientras que en *Mammillaria melaleuca* (Mm) con ninhidrina se observan aproximadamente 5 bandas, con dragendorff solo una, lo cual corresponde lo identificado mediante GC-EIMS. O como en el caso de *Mammillaria baumi* (Mb), en un $R_f = 0.4$ se observa una banda que se reveló tanto con ninhidrina como dragendorff.

5. CONCLUSIONES

Se identificaron y caracterizaron los alcaloides presentes en 8 especies de cactáceas mediante cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC) y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, generando su huella química (fingerprinting). Se observó que este perfil es característico para cada especie por lo que podría ser de ayuda para su identificación taxonómica.

La mitad de las especies analizadas ya cuentan con un perfil fitoquímico, sin embargo, este trabajo es el primer reporte de la presencia de macromerina en *Coryphantha elephantidens* y de *N*-metil-feniletilamina, 3-metoxianfetamina y 3,4-dimetoxi-*N*-metil-feniletilamina en *Mammillaria longimamma*.

Aunque existen reportes de la actividad psicoactiva de *Coryphantha palmeri*, *Mammillaria baumi*, *Mammillaria melaleuca* y *Mammillaria mathildae*, no existe evidencia de los alcaloides que contiene, por lo que sus perfiles son novedosos.

En *Coryphantha palmeri* solo se identificó *N*, *N*-dimetil-dimetil-éter dopamina y en *Mammillaria baumi* 4-metoxi-anfetamina.

Mammillaria melaleuca y *Mammillaria mathildae* tienen presencia de efedrina, siendo el primer reporte de ese compuesto en cactáceas. Adicionalmente, *M. mathildae* mostró la presencia de hordenina, 3,4-dimetoxi-*N*-metil-feniletilamina y etilefrina.

6. ANEXOS

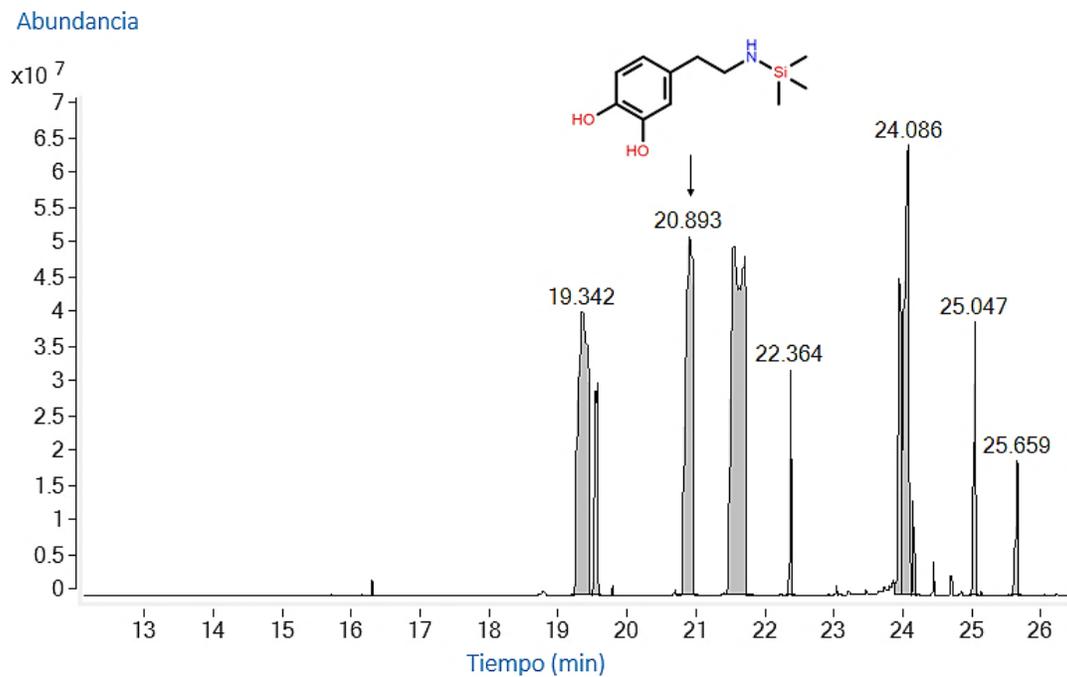
Anexo 1. Mecanismo de acción del reactivo Ninhidrina

El primer paso de este mecanismo involucra el desplazamiento nucleofílico de un grupo hidroxilo (OH) de la ninhidrina por un grupo amino no protonado (NH₂). Posteriormente ocurre una descarboxilación seguida de una hidroxilación, esto produce un anión diceto aminado y un aldehído. Finalmente, este producto reacciona con otra molécula de ninhidrina y forma el cromóforo púrpura de Ruhemann (Friedman, 2004).

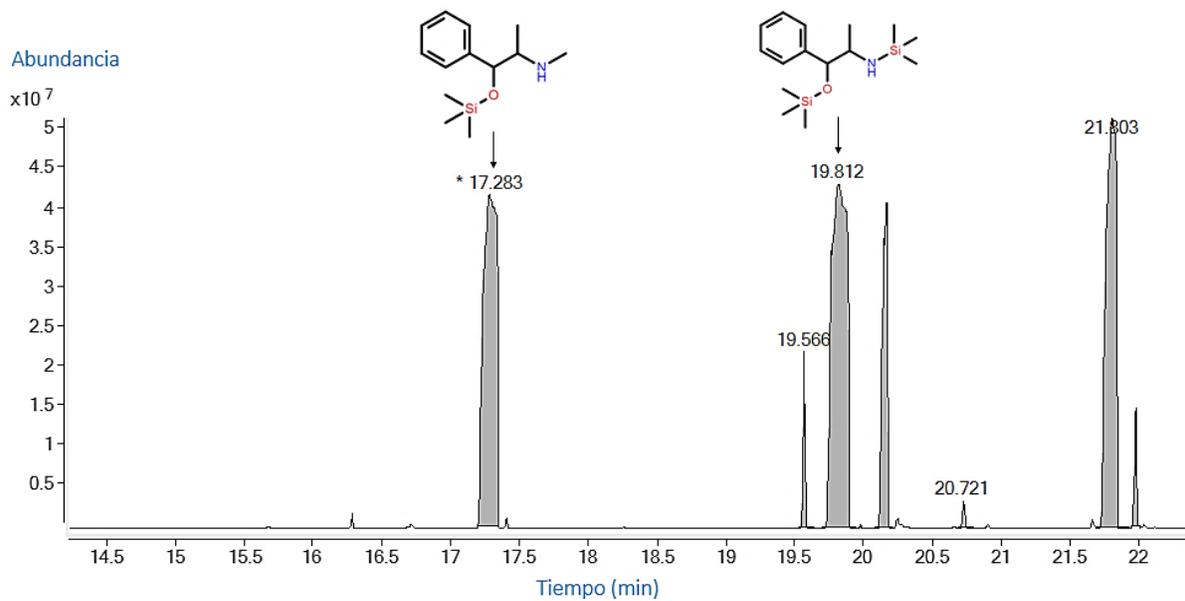
La ninhidrina también puede formar coloración amarilla, la cual es resultado de la reacción con aminas secundarias.

Anexo 2. Mecanismo de acción del reactivo Dragendorff

Este revelador es utilizado para la detección de alcaloides o de manera más general, aminas terciarias e incluso algunas aminas secundarias. Las aminas terciarias son protonadas debido al ácido tartárico, formándose un par de iones que consta de [BiI₄]⁻ y [NHR₃]⁺. Dependiendo de la naturaleza de la amina terciaria, este ion produce coloración amarilla, naranja, roja o café. Las aminas secundarias crean bandas menos coloradas.

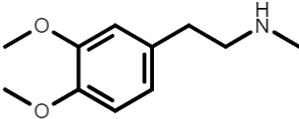
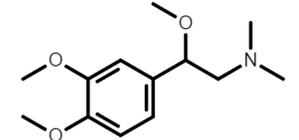
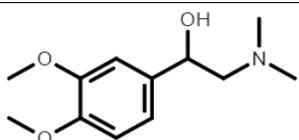


Anexo 3. Cromatograma de extracto derivatizado por silanización de *Coryphantha palmeri*

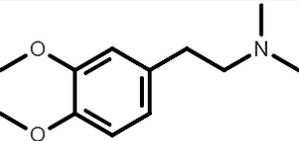


Anexo 4. Cromatograma de extracto derivatizado por silanización de *Mammillaria melaleuca*

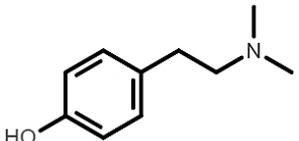
Anexo 5. Compuestos identificados en *Coryphantha elephantidens*

RT	Match	Compuesto	Masa promedio	Estructura
20.385	924	3,4-dimetoxi- <i>N</i> -metil-feniletilamina	195.258 Da	
21.259	938	<i>N, N</i> -dimetil-trimetil éter norepinefrina	239.310 Da	
21.460	—	<i>N, N</i> -dimetil-3,4-dimetoxi- β -hidroxi- β -feniletilamina (Macromerina)	225.284 Da	

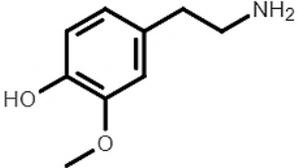
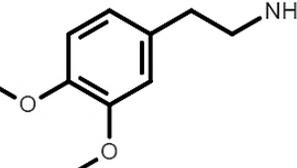
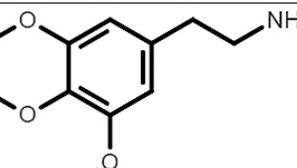
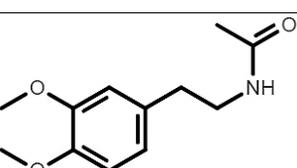
Anexo 6. Compuestos identificados en *Coryphantha palmerii*

RT	Match	Compuesto	Masa promedio	Estructura
18.834	764	<i>N, N</i> -dimetil-dimetil éter-dopamina	209.285 Da	

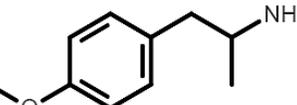
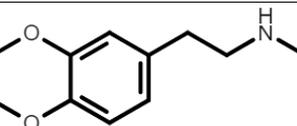
Anexo 7. Compuestos identificados en *Echinocactus grusonii*

RT	Match	Compuesto	Masa promedio	Estructura
19.451	858	Hordenina	165.232 Da	

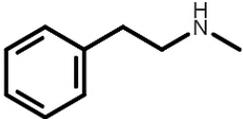
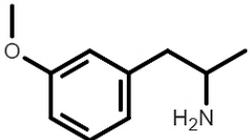
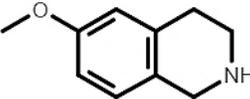
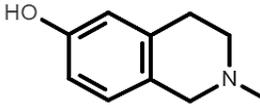
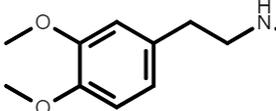
Anexo 8. Compuestos identificados en *Echinopsis pachanoi*

RT	Match	Compuesto	Masa promedio	Estructura
19.633	883	3-metoxitiramina	167.205 Da	
19.845	922	3,4-dimetoxi-feniletilamina	181.232 Da	
21.677	943	Mescalina	211.258 Da	
25.498	875	N-acetil-mescalina	253.294 Da	

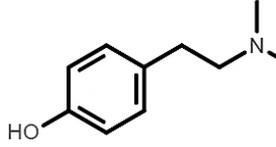
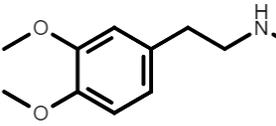
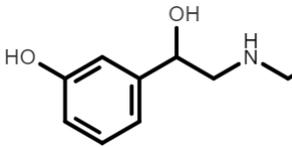
Anexo 9. Compuestos identificados en *Mammillaria baumii*

RT	Match	Compuesto	Masa promedio	Estructura
17.883	871	4-metoxi-anfetamina	165.232 Da	
20.309	871	3,4-dimetoxi-N-metilfeniletilamina	195.258 Da	

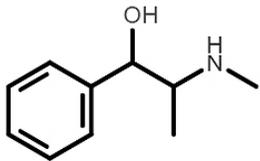
Anexo 10. Compuestos identificados en *Mammillaria longimamma*

RT	Match	Compuesto	Masa promedio	Estructura
14.457	917	<i>N</i> -metil-feniletilamina	135.206 Da	
17.838	858	3-metoxianfetamina	165.232 Da	
19.749	—	6-metoxi-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina (Longimammatina)	163.216 Da	
20.177	838	2-metil-6-hidroxi-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina (Longimamosina)	163.216 Da	
20.326	918	3,4-dimetoxi- <i>N</i> -metil feniletilamina	195.258 Da	

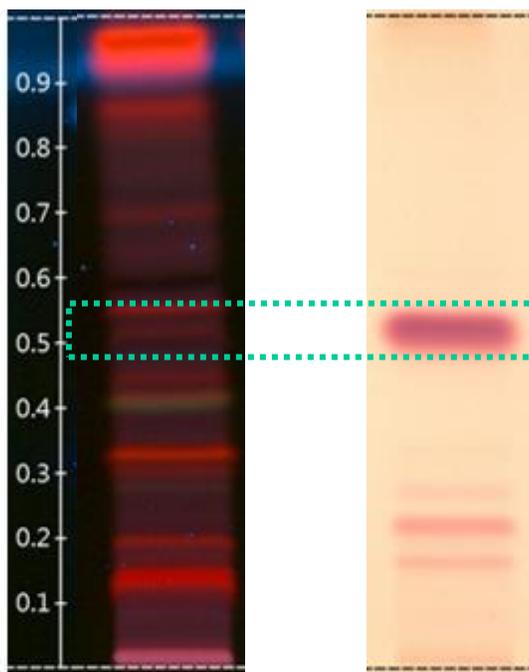
Anexo 11. Compuestos identificados en *Mammillaria mathildae*

RT	Match	Compuesto	Masa promedio	Estructura
18.835	878	Hordenina	165.232 Da	
20.356	770	3,4-dimetoxi- <i>N</i> -metil-feniletilamina	195.258 Da	
21.032	818	Etilefrina	181.232 Da	

Anexo 12. Compuestos identificados en *Mammillaria melaleuca*

RT	Match	Compuesto	Masa promedio	Estructura
16.996	876	Efedrina	165.232 Da	

Anexo 13. Identificación de mescalina en extracto crudo de *Echinopsis pachanoi*



Para llegar a este resultado se realizó una TLC Si Al preparativa con 100 μ l del extracto de *Echinopsis pachanoi*. Una franja de 3 cm de la placa se reveló con ninhidrina para ubicar los compuestos de interés. Posteriormente se extrajeron las bandas equivalentes a las que mostraron coloración, se dejaron 24 h en etanol absoluto, se sonicaron y filtraron para finalmente ser inyectadas en GC-EIMS.

Los compuestos que se encuentran en Rf 0.1 a 0.3, podrían ser precursores de mescalina.

7. REFERENCIAS

- [1] Abraham, H., Aldridge, A. y Gogia, P. 1996. The psychopharmacology of hallucinogens. *Neuropsychopharmacology*, 14(4): 285-298.
- [2] Agurell, S. 1969. Cactaceae alkaloids I. *Journal of natural products*, 32(2): 206-216.
- [3] Anderson, E. 2001. The Cactus family. Timber Press. EU.
- [4] Aniszewski, T. 2015. Alkaloids: chemistry, biology, ecology, and applications. Elsevier. Finlandia.
- [5] Arias, S., Gama-López, S., Guzmán-Cruz, U. y Vázquez-Benítez, B. 2012. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Fascículo 95: Cactaceae. UNAM.
- [6] Batis, A. y Rojas, M. 2002. El peyote y otros cactos alucinógenos de México. *CONABIO. Biodiversitas*, 40: 12-17.
- [7] Beyer, J. y Walter, W. 1987. Manual de química orgánica. Reverté. España.
- [8] Boke, N. 1980. Developmental morphology and anatomy in Cactaceae. *BioScience*, 30(9): 605-610.
- [9] Bisset, N. 2012. Plants as source of isoquinoline alkaloids. En: Phillipson, J., Roberts, M. y Zenk, M. *The Chemistry and Biology of Isoquinoline alkaloids*. Springer. Inglaterra.
- [10] Bravo-Hollis, H. 1978. Las cactáceas de México I. UNAM. México.
- [11] Bravo-Hollis, H. y Sánchez-Mejorada, H. 1991. Las cactáceas de México III. UNAM. México.
- [12] Britton, N. y Rose, J. 1963. The Cactaceae: descriptions and illustrations of plants of the cactus family. Dover Publications. EU.
- [13] Bruhn, J. y Bruhn, C. 1973. Alkaloids and Ethnobotany of mexican peyote cacti and related species. *Economic botany*, 27: 241-251.
- [14] Bruhn, J., Lindgren, J. y Holmstedt, B. 1978. Peyote alkaloids: identification in a prehistoric specimen of *Lophophora* from Coahuila, Mexico. *Science*, 199: 1437-1438.
- [15] Butterworth, C. y Wallace, R. 2004. Phylogenetic studies of *Mammillaria* (Cactaceae) insights form chloroplast sequence variation and hypothesis testing using the parametric bootstrap. *American Journal of Botany*, 91(7): 1086-1098.
- [16] Bye, R. 1979. Hallucinogenic plants of the tarahumara. *Journal of Ethnopharmacology*, (1): 23-48.
- [17] Byng, J. 2004. The flowering plants handbook: a practical guide to families and genera of the world. Plant Gateway. Inglaterra.
- [18] Castañeda-Romero, M., Luna-Contreras, M., Vela-Godinez, D., Montoya-Santiago, G., González-Bermúdez, A. y Martínez, R. 2016. Nota sobre la estructura poblacional de *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae) en la Reserva de la Biosfera "Barranca de Metztitlán", Higaldo, México. *Acta Botánica Mexicana*, 115: 65-73.

- [19] Ciesla, L. 2012. Biological Fingerprinting of herbal samples by means of liquid chromatography. *Chromatography Research International*, 12
- [20] CITES: Convention on International trade in endangered species of wild fauna and flora. 2017. En línea: <https://www.speciesplus.net/species>
- [21] Coffey, S. 2008. Rodd's Chemistry of carbon compounds: a modern comprehensive treatise. Elsevier. Inglaterra.
- [22] Cordell, G. 1997. The alkaloids: Chemistry and Biology. Academic Press. EU.
- [23] Crosby, D. y McLaughlin, J. 1973. Cactus alkaloids. XIX: Crystallization of mescaline HCL and 3-Methoxytyramine HCL from *Trichocereus pachanoi*. *Journal of Natural Products*, 36(4): 416-418.
- [24] Dewick, P. 2002. Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. John Wiley & Sons, LTD. Inglaterra.
- [25] Dicht, R. y Lüthy, A. 2005. *Coryphantha: cacti of Mexico and Southern USA*. Springer. Alemania.
- [26] Durán, R. y Méndez, M. 2010. Cactáceas. Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. CICY. PPD-FMAM, CONABIO.
- [27] El-Seedi, H., De Smet, P., Beck, O., Possnert, G. y Bruhn, J. 2005. Prehistoric peyote use: alkaloid analysis and radiocarbon dating of archaeological specimens of *Lophophora* from Texas. *Journal of Ethnopharmacology*, 101: 238-242.
- [28] Facchini, P. 2001. Alkaloids biosynthesis in plants: Biochemistry, Cell biology, Molecular regulation, and Metabolic engineering applications. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52: 29-66.
- [29] Friedman, M. 2004. Applications of the ninhydrin reaction for analysis of amino acids, peptides, and proteins to agricultural and biomedical sciences. *Journal of agricultural and food chemistry* (52): 385-406.
- [30] Funayama, S. y Cordell, G. 2015. Alkaloids: a treasury of poisons and medicines. Academic Press.
- [31] Garza-Padrón, R., Verde-Star, M., Morales-Rubio, M., Oranday-Cárdenas, A., Rivas-Morales, C., Núñez-González, M. y Barrón-González, M. 2010. Actividad amebicida, antioxidante y perfil fitoquímico de extractos metanólicos de *Astrophytum myriostigma* obtenidos de cultivo de callo y del cactus silvestre. *Polibotánica*, 30: 111-121.
- [32] Ghansah, E., Kopsombut, P., Mallegue, M. y Brossi, A. 1993. Effects of mescaline and some of its analogs on cholinergic neuromuscular transmission. *Neuropharmacology*, 32(2): 169-174.
- [33] Glasby, J. 2012. Encyclopedia of the Alkaloids. Springer. Inglaterra.
- [34] Gottlieb, A. 1977. Peyote and other psychoactive cacti. Ronin Publishing. EU.
- [35] Grundon, M. 1977. The Alkaloids. Royal Society of Chemistry.

- [36] Halse-Gramkow, M., Ernst, M., Ronsted, N., Dunn, R. y Saslis-Lagoudakis, H. 2016. Using evolutionary tools to search for novel psychoactive plants. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 14(4): 246-255.
- [37] Harborne, J. 1973. *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall. Inglaterra.
- [38] Heldt, H. 2005. *Plant biochemistry*. Elsevier. EU.
- [39] Helmlin, H., Bourquin, D. y Brenneisen, R. 1992. Determination of phenylethylamines in hallucinogenic cactus species by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Journal of Chromatography*, 623: 381-385.
- [40] Hernández, H. y Gómez-Hinostrosa, C. 2015. Mapping the Cacti of Mexico: their geographical distribution based on referenced records, Part II: Mammillaria. CONABIO.
- [41] Hodgkins, J., Brown, S. y Massingill, J. 1967. Two new alkaloids in cacti. *Tetrahedron letters*, 14: 1321-1324.
- [42] Hornemann, K., Neal, J. y McLaughlin, J. 1972. Cactus Alkaloids XII: β -Phenethylamine Alkaloids of the genus *Coryphantha*. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61(1): 41-45.
- [43] Ibarra-Díaz, I., Lebgue-Keleng, T., Viramontes-Olivas, O., Reyes-Cortes, I., Ortega-Gutierrez, J. y Morales-Nieto, C. 2016. Modelo de nicho fundamental para *Coryphantha chihuahuensis* (Cactaceae) en el estado de Chihuahua, México. *Ecología aplicada*, 15(1): 11-17.
- [44] Ibarra-Laclette, E., Zamudio-Hernández, F., Pérez-Torres, C., Albert, V., Ramírez-Chávez, E., Molina-Torres, J., Fernández-Cortes, A., Calderón-Vázquez, C., Olivares-Romero, J., Herrera-Estrella, A., y Herrera-Estrella, L. 2015. *De novo* sequencing and analysis of *Lophophora williamsii* transcriptome, and searching for putative genes involved in mescaline biosynthesis. *BMC Genomics*, 16: 657.
- [45] Irsfeld, M., Spadafore, M. y Birgit, M. 2013. β -phenylethylamine, a small molecule with large impact. *HHS Author Manuscripts*, 4(9): 4409.
- [46] IUCN: Red list of threatened species. 2018. En línea: <http://www.iucnredlist.org/>
- [47] Jiménez-Sierra, C. y Eguiarte, L. 2010. Candy Barrel Cactus (*Echinocactus platyacanthus*) Link & Otto: A traditional plant resource in Mexico subject to uncontrolled extraction and browsing. *Economic Botany*, 64: 99-108.
- [48] Joshi, D. 2012. *Herbal drugs and fingerprints: evidence based herbal drugs*. Springer. India.
- [49] Kapadia, G. y Fayez, B. 1970. Peyote constituents: Chemistry, biogenesis, and biological effects. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 59(12): 1699-1727.
- [50] KEGG: Kyoto Encyclopedia of genes and genomes. 2017. En línea: <https://www.kegg.jp/>

- [51] Keller, W. 1980. Catecholamine metabolism in a psychoactive cactus. *Clinical toxicology*, 16(2): 233-243.
- [52] Khan, F., Qidwai, T., Shukla, R. y Gupta, V. 2013. Alkaloids derived from tyrosine: modified benzyltetrahydroisoquinoline alkaloids. En: Ramawat, K. y Mérillon, J. Natural Products: phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes. Springer. Alemania.
- [53] Kukula-Koch, W. y Widelski, J. 2017. Alkaloids. En: Badal, S. y Delgoda, R. Pharmacognosy: fundamentals, applications, and strategies. Academic Press.
- [54] Kulma, A. y Szopa, J. 2007. Catecholamines are active compounds in plants. *Plant Science*, 172: 433-440.
- [55] Kutchan, T. 1995. Alkaloid biosynthesis-The basis for metabolic engineering of medicinal plants. *The Plant Cell*, 7: 1059-1070.
- [56] Kvist, L. y Moraes, M. 2006. Plantas psicoactivas. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 294:312.
- [57] Levin, D. y York, B. 1978. The Toxicity of Plant Alkaloids: an Ecogeographic Perspective. *Biochemical Systematics and Ecology*, 6: 61-76.
- [58] Luckner, M. 1990. Secondary metabolism in microorganisms, plants, and animals. Springer-Verlag. Alemania.
- [59] Lundström, J. 1983. Simple Isoquinoline alkaloids. En: Brossi, A. The alkaloids: Chemistry and pharmacology. Academic Press. Inglaterra.
- [60] Mesa, V. 2011. Segundo informe referente a la realización de la asesoría número INE/ADA-026/2011 denominada "Cactáceas mexicanas: usos y amenazas". INECC. México.
- [61] Miller, J. 2005. Chromatography: concepts and contrasts. Wiley Interscience. EU.
- [62] Neal, J., Sato, P., Howald, W. y McLaughlin, J. 1972. Peyote Alkaloids: identification in the mexican cactus *Pelecyphora aselliformis* Ehrenberg. *Science*, 176: 1131-1133.
- [63] Nichols, D. 1986. Studies of the relationship between molecular structure and hallucinogenic activity. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 24: 335-340.
- [64] O'Connor, S. 2010. Alkaloids. En: Mander, L. y Liu, H. Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology. Elsevier. EU.
- [65] Odjakova, M. y Hadjiivanova, C. 1997. Animal Neurotransmitter substances in plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 23(1): 94-102.
- [66] Ogunbodede, O., McCombs, D., Trout, K., Daley, P. y Terry, M. 2010. New mescaline concentrations from 4 taxa/cultivars of *Echinopsis* spp. (Cactaceae) ("San Pedro") and their relevance to shamanic practice. *Journal of Ethnopharmacology*, 131: 356-362.
- [67] Ortega-Baes, P., Sühring, S., Sajama, J., Sotola, E., Alonso-Pedano, M., Bravo, S. y Godínez-Alvarez, H. 2010. Diversity and Conservation in the Cactus Family. En: Ramawat, K. Desert Plants: Biology and Biotechnology. Springer. Alemania.

- [68] Pereira, R., Bemvenuti, A., Schmitt, G. y Dutra, M. 2013. Pharmacological effects of ephedrine. En: En: Ramawat, K. y Mérillon, J. *Natural Products: phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes*. Springer. Alemania.
- [69] Rätsch, C. 2005. *Encyclopedia of Psychoactive Plants*. Park Street Press. EU.
- [70] Ranieri, R. y McLaughlin, L. 1975. β -Phenethylamine and Tetrahydroisoquinoline alkaloids from the Mexican cactus *Dolichothele longimamma*. *Journal of Organic Chemistry*, 41(2): 319-323.
- [71] Reich, E. y Schibli, A. 2006. *High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants*. Thieme. China.
- [72] Roberts, M. y Wink, M. 1998. *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications*. Springer. EU.
- [73] Sánchez, D., Arias, S. y Terrazas, T. 2013. Análisis morfométrico de las especies de *Echinocereus* sección *Triglochidiati* (Cactaceae) en México. *Journal of systematic botany*, 65(3): 368-385.
- [74] Sánchez-Herrera, R., Sotelo-Olague, M., Aparicio-Fernández, X. y Loza-Cornejo, S. 2011. *Coryphantha* spp. Proximate composition and Phytochemical profile. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 13: 36-67.
- [75] Santos-Díaz, M., Pérez-Molphe, E., Ramírez-Malagón, R., Nuñez-Palenius, H. y Ochoa-Alejo, N. 2010. Mexican threatened Cacti: Current status and strategies for their conservation. *Nova Science Publishers, Inc.*
- [76] Sato, F. y Kumagai, H. 2013. Microbial production of isoquinoline alkaloids as plant secondary metabolites based on metabolic engineering research. *Proceedings of the Japan Academy Series B Physical and Biological Sciences*, 89(5):165-182.
- [77] Saxton, J. 2007. *The alkaloids*. Royal Society of Chemistry. Inglaterra.
- [78] Schultes, R. 1977. The botanical and chemical distributions of hallucinogens. *Journal of Psychedelic Drugs*, 9(3).
- [79] Schenck, C. y Maeda, H. 2018. Tyrosine biosynthesis, metabolism, and catabolism in plants. *Phytochemistry*, 149: 82-102.
- [80] Schultes, R. y Hofmann, A. 2000. *Plantas de los dioses: orígenes del uso de los alucinógenos*. Fondo de cultura económica. México.
- [81] SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo.
- [82] Shamma, M. 1972. *The Isoquinoline Alkaloids Chemistry and Pharmacology*. Academic Press. EU.
- [83] Shamma, M. y Moniot, J. 1978. *Isoquinoline Alkaloids Research*. Plenum Press. EU.

- [84] Shulgin, A. 1979. Chemistry of Phenethylamines related to mescaline. *Journal of Psychoactive drugs*, 11:41-52.
- [85] Silverstein, R., Webster, F. y Kiemle, D. 2005. Spectrometric identification of organic compounds. John Wiley & Sons, INC. EU.
- [86] Smith, T. 1977. Phenethylamine and related compounds in plants. *Phytochemistry*, 16: 9-18.
- [87] Southon, I. y Buckingham, J. 1989. Dictionary of alkaloids. Chapman and Hall. Inglaterra.
- [88] The Plant List. 2010. En línea: <http://www.theplantlist.org>
- [89] Trout, K. 2013. The cactus alkaloids: nomenclature, physical properties, pharmacology, and occurrences. Mydriatic Productions. EU.
- [90] United Nations Drug Control Programme. 1989. Recommended methods for testing peyote cactus (mescal buttons)/mescaline and psilocybe mushrooms psilocybin. Manual for use by National Narcotics Laboratories. EU.
- [91] Vázquez-Benítez, B., Arias, S. y Cervantes-Sandoval, A. 2016. Variación morfológica de *Coryphantha* (Cactaceae): un enfoque multivariado. *Acta Botánica Mexicana*, 116: 21-47.
- [92] Wagner, H. y Bladt, S. 1996. Plant Drug Analysis: a thin layer chromatography atlas. Springer. Alemania.
- [93] Walton, H. y Reyes, J. 2005. Análisis químico e instrumental moderno. Reverté. España.