

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
QUÍMICA MEDICINAL

**CUANTIFICACIÓN DE *N,N*-DIMETILTRIPTAMINA EN EL EXTRACTO METANÓLICO DE
MIMOSA TENUIFLORA, PLASMA Y TEJIDO CEREBRAL POR HPLC-UV**

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA

LUIS ALBERTO MUNGUÍA GALLARDO
2182800846

COMITÉ TUTORIAL

Tutor: Dr. Camilo Ríos Castañeda
Asesor: Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa
Asesor: Dr. Sol Cristians Niizawa

DICIEMBRE, 2021

**CUANTIFICACIÓN DE N,N-DIMETILTRIPTAMINA EN EL EXTRACTO METANÓLICO DE
MIMOSA TENUIFLORA, PLASMA Y TEJIDO CEREBRAL POR HPLC-UV**



Vo. Bo. Dr. Camilo Ríos Castañeda



Vo. Bo. Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa



Vo. Bo. Dr. Sol Cristians Niizawa



Luis Alberto Munguia Gallardo
2182800846

**CUANTIFICACIÓN DE N,N-DIMETILTRIPTAMINA EN EL EXTRACTO METANÓLICO DE
MIMOSA TENUIFLORA, PLASMA Y TEJIDO CEREBRAL POR HPLC-UV**

Jurado



Presidente: Dra. Martha Lydia Macías Rubalcava



Vocal: Dr. Samuel Enoch Estrada Soto



Secretario: Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda

Resumen

La medicina tradicional es una fuente de conocimiento poco explorada por la medicina moderna, algunas plantas o sus derivados podrían ser de utilidad en el tratamiento tanto de enfermedades neuropsiquiátricas como neurodegenerativas. Los alcaloides indólicos de origen natural tienen ventajas terapéuticas significativas sobre los antidepresivos y ansiolíticos convencionales, además se ha demostrado que este grupo de moléculas son psicoplastógenas, es decir que pueden estimular la plasticidad neuronal e incluso inducir procesos de neurogénesis y psinatogénesis.

N,N-dimetiltriptamina es un indol de origen natural con varias aplicaciones terapéuticas potenciales en neuropsiquiatría, se ha identificado en diferentes especies del género *Mimosa*, entre ellas *Mimosa tenuiflora* que es parte de la medicina tradicional de México y Brasil, donde se le han dado múltiples aplicaciones terapéuticas. En México su principal aplicación es como antiséptico y cicatrizante, mientras que en algunas regiones de Brasil se ha utilizado desde la época precolombina como herramienta psicoterapéutica en procesos de "sanación espiritual".

Lamentablemente los métodos analíticos para cuantificar *N,N*-dimetiltriptamina por lo general involucran materiales y equipos que los hacen poco accesibles para la mayoría de laboratorios. Una de las mayores limitaciones para el desarrollo o aplicación de un método analítico es la adquisición de un estándar de referencia, una alternativa es la obtención y evaluación de referencias analíticas en el laboratorio, ya que cuando se logra obtener una molécula de referencia en cantidades suficientes entonces se pueden desarrollar nuevas metodologías que involucren instrumental accesible para su aplicación rutinaria en investigación.

En la primera etapa de este trabajo se empleó un método de extracción con disolvente apolar en medio básico para obtener el alcaloide, se purificó utilizando

recristalización y se analizó por cromatografía en capa fina. Se llevó a cabo la identificación estructural del compuesto por resonancia magnética nuclear de protón y carbono, además se evaluó su pureza utilizando cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos.

La molécula obtenida se utilizó como referencia analítica en el desarrollo y evaluación de métodos para cuantificar *N,N*-dimetiltriptamina en el extracto metanólico de *Mimosa tenuiflora*, plasma y tejido cerebral empleando cromatografía líquida de alta resolución con detector ultra violeta. Por último, se realizaron ensayos *in vivo* e *in vitro* para evaluar la actividad biológica de diferentes dosis del extracto sobre la función de las monoamino oxidasas A y B utilizando espectrofluorometría.

Los métodos analíticos desarrollados para cuantificar *N,N*-dimetiltriptamina en el extracto de *M. tenuiflora*, plasma y tejido cerebral usando cromatografía líquida de alta resolución con detector ultra violeta son aplicables, además de exactos y reproducibles, estas metodologías también son más accesibles que la mayoría de las que existen actualmente.

No se encontraron evidencias de que el extracto metanólico de la corteza de *M. tenuiflora* inhiba la actividad de las monoamino oxidasas A o B por lo tanto, no es recomendable el uso de la corteza en el tratamiento e investigación de enfermedades neuropsiquiátricas, sin embargo, es una fuente potencial de *N,N*-dimetiltriptamina y algunas mezclas de la planta con inhibidores de monoamino oxidasas A podrían ser útiles.

Agradecimientos institucionales

Quiero agradecer profundamente a mi comité tutorial por la paciencia y dedicación demostradas durante el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Camilo por tener las respuestas o las preguntas cuando es necesario, por poner su conocimiento siempre al alcance y su experiencia a disposición para encausar las ideas fabricadas en cada una de las etapas de la investigación.

Al Dr. Francisco por acompañarme en las buenas y malas de este proceso, por recordarme que los grandes logros implican siempre un gran esfuerzo y que se puede ser exigente sin dejar de ser persona. De usted me queda el ejemplo y valiosos aprendizajes.

Al Dr. Sol por su compromiso permanente, por aportar una mirada crítica siempre constructiva, también por el apoyo cada vez que fue necesario.

Al Dr. Luis Tristán por su ayuda en el laboratorio, por el tiempo y esfuerzo depositados en este trabajo.

Al Dr. Iván Pérez, por el asesoramiento y el soporte que fueron de gran importancia a lo largo del proyecto.

Para ustedes, máximo respeto.

Agradecimientos personales

A mis padres, no existen palabras suficientes para expresar mi respeto y agradecimiento, los llevo siempre en mi corazón, gracias a ustedes he llegado hasta aquí.

A Tonatzin, en esta ocasión por el aguante y en las demás por ser la mujer de mi vida.

Contenido

Resumen	4
1. Introducción	11
2. Antecedentes	13
3. Marco teórico	18
3.1. Fitoindoles	18
3.2. Jurema	19
3.3. <i>Mimosa tenuiflora</i>	20
3.4. Biosíntesis de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina	24
3.5. <i>N,N</i> -dimetiltriptamina	24
3.6. Efectos subjetivos vinculados a <i>N,N</i> -dimetiltriptamina	27
3.7. Consideraciones farmacológicas para la aplicación terapéutica de <i>N,N</i> - dimetiltriptamina	28
3.8. Farmacodinamia de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina	30
3.9. Farmacocinética de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina	34
4. Planteamiento del problema	37
4.1. Justificación	38
5. Hipótesis	39
6. Objetivos	39
6.1. Objetivo general	39
6.2. Objetivos específicos	39
7. Materiales y métodos	40
7.1. Identificación de <i>M. tenuiflora</i>	40
7.2. Obtención de la referencia analítica de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina	40
7.3. Identificación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina por NMR ¹ H y ¹³ C	41

7.4. Determinación de la pureza de la referencia analítica de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina	42
7.5. Identificación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina en el extracto metanólico de <i>M. tenuiflora</i>	43
Preparación del extracto	43
Identificación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina en el extracto metanólico de <i>M. tenuiflora</i> por HPLC-DAD	44
7.6. Cuantificación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina en el extracto metanólico de <i>M. tenuiflora</i> por HPLC-UV	44
Preparación de la muestra	45
7.6.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema	45
Preparación de la referencia analítica de DMT	45
7.6.1.1. Linealidad	45
7.6.1.2. Repetibilidad	46
7.6.1.3. Reproducibilidad	47
7.6.1.4. Límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LQ)	47
7.7. Determinación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina en plasma por HPLC-UV	48
Preparación de la muestra	48
7.7.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema	49
Preparación de la referencia analítica de DMT	49
7.7.1.1. Linealidad	50
7.7.1.2. Repetibilidad y reproducibilidad	50
7.7.1.3. Límite de detección y límite de cuantificación	50
7.7.2. Evaluación de los parámetros de calidad del método	50
Preparación del plasma enriquecido con la referencia analítica de DMT	50
Preparación de la referencia analítica de DMT	51

7.7.2.1. Linealidad	51
7.7.2.2. Repetibilidad y reproducibilidad	51
7.7.2.3. Límite de detección y límite de cuantificación	51
7.8. Determinación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina en tejido cerebral por HPLC-UV	51
Preparación de la muestra	51
7.8.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema	52
Preparación de la referencia analítica de DMT	52
7.8.1.1. Linealidad	52
7.8.1.2. Repetibilidad y reproducibilidad	53
7.8.1.3. Límite de detección y límite de cuantificación	53
7.9. Evaluación de la actividad iMAO de la corteza de <i>M. tenuiflora</i>	53
7.9.1. Ensayo <i>in vivo</i>	53
7.9.2. Ensayo <i>in vitro</i>	55
8. Resultados	56
8.1. Obtención de la referencia analítica de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina	56
8.2. Identificación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina por NMR ¹ H y ¹³ C	58
8.3. Determinación de la pureza de la referencia analítica de <i>N,N</i> - dimetiltriptamina	61
8.4. Identificación de DMT en el extracto metanólico de <i>M. tenuiflora</i>	62
Identificación de DMT en el extracto metanólico de <i>M. tenuiflora</i> por TLC	62
Identificación de DMT en el extracto metanólico de <i>M. tenuiflora</i> por HPLC- DAD	62
8.5. Cuantificación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina en el extracto metanólico de <i>M.</i> <i>tenuiflora</i> por HPLC-UV	63
8.5.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema	65
8.5.1.1. Linealidad	65

8.5.1.2. Repetibilidad	66
8.5.1.3. Reproducibilidad	67
8.5.1.4. Límite de detección y límite de cuantificación	67
8.6. Determinación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina en plasma por HPLC-UV	68
8.6.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema	69
8.6.1.1. Linealidad	69
8.6.1.2. Repetibilidad	69
8.6.1.3. Reproducibilidad	70
8.6.1.4. Límite de detección y límite de cuantificación	71
8.6.2. Evaluación de los parámetros de calidad del método	71
8.6.2.1. Linealidad	71
8.6.2.2. Repetibilidad	72
8.6.2.3. Reproducibilidad	73
8.6.2.4. Límite de detección y límite de cuantificación	74
8.7. Determinación de <i>N,N</i> -dimetiltriptamina en tejido cerebral por HPLC-UV	74
8.7.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema	75
8.7.1.1. Linealidad	75
8.7.1.2. Repetibilidad	76
8.7.1.3. Reproducibilidad	77
8.7.1.4. Límite de detección y límite de cuantificación	77
8.8. Evaluación de la actividad iMAO de la corteza de <i>M. tenuiflora</i>	78
8.8.1. Ensayo <i>in vivo</i>	78
8.8.2. Ensayo <i>in vitro</i>	79
9. Discusión	80
10. Conclusiones	85
11. Referencias	85

1. Introducción

El entorno natural ha proporcionado recursos invaluable a los seres humanos para mejorar su salud y aliviar enfermedades, un ejemplo son las plantas medicinales, se sabe que algunas han sido utilizadas con fines curativos desde hace por lo menos 60 mil años ¹. La aplicación empírica de productos naturales para tratar enfermedades a través del tiempo permitió acumular información que podría ser útil para la medicina moderna sobre la aplicación terapéutica, eficacia y seguridad de algunas especies ¹⁻³.

Por otra parte, el conocimiento generado por diferentes culturas posibilitó el desarrollo de complejos sistemas de medicina tradicional en distintos países alrededor del mundo, los cuales son regulados principalmente por usos y costumbres, además se sostienen gracias a la diversidad de las especies vegetales endémicas de cada región. Para entender cómo funciona la medicina tradicional, debemos considerar que por lo general involucra elementos simbólicos que se mezclan con la aplicación terapéutica de plantas medicinales ³.

Algunas plantas medicinales se han empleado empíricamente para atender síntomas asociados a enfermedades neuropsiquiátricas (ENP) ^{4,5} debido a que contienen moléculas psicoactivas (principios psicoactivos). Las moléculas psicoactivas son aquellas que tienen actividad biológica en el sistema nervioso central (SNC) ⁴. Varias de las plantas medicinales con principios psicoactivos o plantas medicinales psicoactivas (PMS) son parte fundamental de la medicina tradicional de diferentes países ¹⁻³.

La aplicación de PMS era una práctica habitual en el mundo antiguo, especialmente en las culturas madre de la civilización occidental (Grecia y Egipto) ⁶⁻⁸. En gran parte de Asia y algunas regiones de Europa se aprovechaban las propiedades terapéuticas del opio (*Papaver somniferum*), y la cannabis (*Cannabis sativa*, *C. indica*) ⁹⁻¹¹, asimismo otras PMS como la belladona (*Atropa belladonna*) o la mandrágora

(*Mandragora autumnalis*) también eran utilizadas ⁶⁻⁸. Por otra parte, en distintos sectores de África se administraba la corteza de la raíz de iboga (*Tabernathe iboga*) en ceremonias de “sanación espiritual” ¹².

El uso de PMS en América tiene al menos 8 mil años de antigüedad ¹³, es una práctica médica cargada de un amplio simbolismo, donde se mezcla la idea de un mundo gobernado por leyes naturales con la concepción e interpretación mágica del universo ¹⁴⁻¹⁶. El uso de PMS se extendió entre los olmecas, mayas, mexicas e incas, donde la ceremonia que acompañaba a la administración era parte fundamental en el proceso terapéutico ¹⁴.

En un contexto ritual se le atribuye una explicación sobrenatural tanto a los síntomas asociados con ENP como a su desaparición. Las PMS, generalmente se perciben como “canales de comunicación con los dioses”, incluso en algunas culturas son sagradas y popularmente se consideran medicinales debido a que estimulan la recuperación de la integridad física, emocional e intelectual de quienes buscan consumirlas con fines curativos ^{14,15}.

En América, algunas PMS como el yopo (*Anadenanthera colubrina*) fueron utilizadas por culturas precolombinas en el caribe ^{16,17}, otras como el hikuri (*Lophophora williamsii*), el teonanacatl (*Psilocibe aztecorum*) y el ololiuqui (*Turbina corymbosa*) se emplearon en Centroamérica, mientras que en el sur del continente se consumía la wachúma (*Trichocereus pachanoi*, *T. peruvianus*, *T. bridgesii*) ¹³ y la hoja de coca (*Erythroxilum coca*) ^{18,19}.

Hay registro de dos bebidas elaboradas a partir de PMS en la selva del Amazonas, una de ellas contiene las hojas de *Psychotria viridis* y la corteza de *Banisteriopsis caapi*, es conocida como ayahuasca, palabra de origen quechua que significa cuerda del espíritu ^{20,21}. La otra se prepara con la corteza de *Mimosa tenuiflora*, se le llama jurema, palabra que proviene del tupi y significa planta espinosa suculenta ²². Ambas

bebidas son de uso tradicional en la región y contienen *N,N*-dimetiltriptamina (DMT) como principio psicoactivo.

Las propiedades curativas de las PMS se deben a su composición química, algunas contienen más de un principio psicoactivo ^{4,5}, en ocasiones estas propiedades son consecuencia de la actividad biológica de dos o más moléculas en sinergia ^{23,24}. Por otra parte, en ciertos casos es necesario aplicar mezclas de plantas para lograr el efecto terapéutico ²³⁻²⁷, en cualquier caso, para la aplicación de PMS se deben considerar las interacciones farmacológicas que se puedan presentar ^{23,24}.

Existe evidencia clínica de que los ansiolíticos y antidepresivos convencionales pueden inducir nuevas ENP o empeorar las ya existentes incluso cuando se utilizan correctamente bajo vigilancia médica y psicológica ²⁸⁻³¹, el uso de estos medicamentos es bastante complicado debido a que uno de cada tres pacientes presentan reacciones adversas medicamentosas graves ²⁸, otra característica negativa relevante es que provocan un síndrome de abstinencia severo tras la suspensión del tratamiento ^{30,31}.

Hay algunas alternativas de origen natural que podrían ayudar en el proceso de recuperación de personas con ENP. Debemos tomar en cuenta que la mayoría de los ensayos realizados aplicando PMS como herramientas terapéuticas aportan evidencia contundente sobre la efectividad y las ventajas potenciales del uso medicinal de estos compuestos ³²⁻⁵⁸. Por lo anterior, es necesario estudiar las PMS, con el fin de identificar, cuantificar y evaluar sus principios psicoactivos ^{59,60}.

2. Antecedentes

La DMT se aisló por primera vez de *M. tenuiflora* en 1942 por Oswaldo Gonçalves de Lima ⁶¹, sin embargo, sus propiedades neurofarmacológicas no fueron confirmadas sino hasta 1956 ⁶². En México, durante los años noventa, Xavier Lozoya

consiguió identificar DMT en la corteza de *M. tenuiflora*, haciendo uso de cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD) la caracterización estructural se realizó por resonancia magnética nuclear de protón y carbono (NMR ^1H y NMR ^{13}C) ⁶³.

En 2005 el equipo de trabajo de Jouko Vepsäläinen aisló e identificó DMT en el extracto metanólico de muestras silvestres de la corteza de *M. tenuiflora* provenientes del estado de Oaxaca, para lograrlo utilizaron una técnica por cromatografía líquida de alta resolución con detector ultra violeta (HPLC-UV), además de NMR, y espectrometría de masas, sin embargo, no se realizó un análisis cuantitativo de DMT ⁶⁴.

María del Pilar Nicasio y colaboradores cuantificaron DMT en diferentes tejidos micro propagados de tepezcohuite en 2005, emplearon una metodología por HPLC-UV, se utilizó una columna C_{18} y una mezcla de acetonitrilo (ACN) y carbonato de sodio como fase móvil, además como referencia analítica se usó un estándar de DMT comercial. La cuantificación se realizó en crudos alcaloideos obtenidos de distintos tejidos de *M. tenuiflora* cultivados *in vitro* ⁶⁵.

En el año 2012, Alain Gaujac y su equipo cuantificaron DMT en la corteza de distintas poblaciones silvestres de *M. tenuiflora* del estado de Sergipe, Brasil, para ello utilizaron un sistema extractivo por dispersión en matriz de fase sólida (MSPD) y un método por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS), el cual fue validado utilizando un estándar de referencia aislado de la corteza de *M. tenuiflora* por ellos mismos ⁶¹.

Para el 2013, Sabrina Teixeira Martínez y colaboradores llevaron a cabo la identificación y determinación de la pureza de DMT aislada de *M. tenuiflora* colectadas en la selva brasileña. Para este trabajo se utilizó un método convencional de extracción con disolvente orgánico apolar en medio básico para obtener el alcaloide. El análisis instrumental se realizó por CG-MS y NMR ^1H y ^{13}C ⁶⁶.

En 2020 el equipo de Isabela Araujo realizó un estudio químico para evaluar las características farmacognósticas de *M. tenuiflora*, utilizaron una referencia analítica comercial de DMT para cuantificar el alcaloide en el extracto etanólico de la corteza por CG-MS y NMR ¹H. En dicho proyecto no se encuentran reportados datos sobre la evaluación de los parámetros de calidad de los métodos analíticos aplicados ⁶⁷.

La DMT se produce de manera endógena en todos los mamíferos y se han analizado diferentes tejidos con el fin de estudiar su producción o distribución ⁶⁸⁻⁷⁴. Asimismo, se ha determinado la concentración de DMT en distintas matrices biológicas de origen animal y vegetal, existen técnicas que permiten cuantificarla en cabello, orina, sangre, suero, plasma y tejido cerebral ⁷⁵⁻⁷⁸.

En 1972 Irving Cohen y Wolfgang Vogel determinaron la concentración de DMT en muestras de hígado, cerebro y plasma murino después de administrar diferentes dosis del alcaloide. En este trabajo emplearon precipitación de proteínas como método de extracción y una técnica por fluorimetría (FL) para realizar la cuantificación ⁶⁸.

En 1996 el equipo de James Callaway utilizó CG con un detector nitrógeno-fósforo (CG-NP) para cuantificar DMT en plasma después de administrar una dosis oral de ayahuasca, la muestra se preparó con una técnica por precipitación con ACN a -20°C. Las concentraciones de DMT en plasma reportadas en este trabajo van de 11.5 a 25.5 ng/mL ⁶⁹.

Mercedes Yritia y colaboradores cuantificaron DMT en muestras de plasma por GC-NP en 2002, utilizando un estándar de comercial como referencia analítica ⁷⁰, para la preparación de la muestra aplicaron un método de extracción en fase sólida. Por otra parte, en 2012 Carolina Dizioli y su equipo emplearon cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas en tándem (LC-MS/MS) para la determinación de DMT en plasma, se obtuvieron concentraciones en un rango de 1.2 a 19.8 ng/mL ⁷¹.

En 2013 Steven Barker y colaboradores desarrollaron una metodología por LC-MS/MS para cuantificar DMT en glándula pineal murina micro dializada, las concentraciones reportadas son comparables con las de otros neurotransmisores endógenos ⁷².

En 2018 Jon Dean y su equipo de trabajo determinaron las concentraciones de DMT extracelular en tejido cerebral murino micro dializado empleando para ello cromatografía líquida de alta resolución con detector de fluorescencia (HPLC-FD), se utilizó una columna C₁₈ y una mezcla de metanol (MeOH) y acetato de sodio como fase móvil, en este trabajo se usó un estándar comercial de DMT como referencia analítica ⁷³.

En 2020 se realizó la determinación de DMT en tejido cerebral y plasma murinos por Tímea Körmöczi y colaboradores utilizando cromatografía líquida bidimensional acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (2D-LC-HRMS/MS), el rango de concentraciones de DMT en plasma fue de 49.3 a 114.3 ng/mL y en tejido cerebral se pudieron cuantificar en un rango de 2 a 6.1 ng/g ⁷⁴.

También, se han reportado metodologías para cuantificar DMT en sangre y orina empleando LC-MS ⁷⁵⁻⁷⁷. Por otra parte, se ha logrado cuantificar en cabello por cromatografía líquida de ultra resolución acoplada a un espectrómetro de masas en tándem (UPLC-MS/MS) ⁷⁸.

De igual forma, existen metodologías para cuantificar DMT en otras matrices biológicas, se ha cuantificado en muestras de ayahuasca utilizando LC-MS/MS ⁵⁹, espectrometría de masas de alta resolución en tiempo real (DART-HRMS) ⁷⁹, HPLC-DAD ⁵⁶ y HPLC-FD ⁸⁰. En la Tabla I se agrupan diferentes técnicas para determinar la concentración de DMT en algunas matrices biológicas.

Tabla I. Métodos de cuantificación de DMT en distintas matrices biológicas
Ventajas y desventajas

Muestra	Preparación de la muestra	Técnica	Referencias
Corteza de <i>M. tenuiflora</i>	MSPD, extracción líquido-líquido	GC-MS, HPLC-UV	61, 63, 65, 67
Plasma	Precipitación de proteínas, extracción líquido-líquido, extracción en fase sólida	FL, GC-NP, 2D-LC-HRMS/MS, LC-MS/MS	68-71, 74
Tejido cerebral	Digestión, extracción líquido-líquido, micro diálisis	FL, LC-MS/MS, HPLC-FD, 2D-LC-HRMS/MS	72-74
Ayahuasca (<i>P. viridis</i> , <i>B. caapi</i>)	Extracción en fase líquida	HPLC-DAD, HPLC-FD, LC-MS/MS, DART-HRMS	56, 59, 79, 80
Sangre	Precipitación de proteínas, dilución en fase móvil	LC-MS/MS	75
Orina	Micro extracción en fase líquida	LC-MS/MS	76, 77
Cabello	Digestión, hidrolisis	UPLC-MS/MS	78
Hígado	Digestión, extracción líquido-líquido	FL	68

Un hecho relevante es que a la fecha no hay reportes de estrategias metodológicas por HPLC-UV que involucren la cuantificación de DMT en la corteza de *M. tenuiflora*, plasma y tejido cerebral, en ese sentido el presente proyecto de investigación aporta nuevas opciones más accesibles para la cuantificación de DMT.

Cabe señalar que no se han realizado ensayos biológicos que tengan como objetivo evaluar el efecto de *M. tenuiflora* sobre la actividad de las monoamino oxidasas (MAO), sin embargo, Jouko Vepsäläinen y Seppo Auriola sugieren que en la corteza de *M. tenuiflora* existen moléculas que podrían tener efecto inhibitorio sobre la actividad de estas enzimas ⁶⁴, otros autores como Matthew Calvert y Jonathan Sperry coinciden ^{81,82}.

3. Marco teórico

3.1. Fitoindoles

Los alcaloides son de interés farmacéutico debido a su actividad biológica y múltiples aplicaciones terapéuticas, se pueden obtener por síntesis orgánica o de fuentes naturales como plantas, hongos y animales ⁸¹⁻⁸³. En la naturaleza los alcaloides se derivan del metabolismo secundario de aminoácidos como ornitina, lisina, fenilalanina, tirosina, triptófano e histidina ⁸⁴. En el caso particular de los indoles se trata de alcaloides compuestos por una unidad de benceno fusionada con un anillo de pirrol.

Los alcaloides de tipo indólico que provienen de fuentes naturales se conocen como fitoindoles, en estas moléculas el anillo de indol puede estar combinado con otros grupos de metabolitos secundarios (terpenos o flavonoides) ⁶⁴ que proveen al alcaloide de propiedades químicas o farmacológicas particulares. Los fitoindoles son derivados de *L*-triptófano y tienen diferentes funciones biológicas que incluyen principalmente protección o la conservación de tejidos ⁸⁴.

Varios fitoindoles son moléculas psicoactivas, por lo general las triptaminas exógenas interactúan con receptores serotoninérgicos (5-HTR) debido a su semejanza estructural con la serotonina (5-HT) ⁸⁵, por lo que pueden mimetizar funciones endógenas de este neurotransmisor e influir en el metabolismo del mismo alterando la actividad de enzimas y proteínas transportadoras ⁸⁶.

La actividad biológica de los fitoindoles además de sus distintas aplicaciones terapéuticas los convierten en un grupo de especial relevancia para la farmacia, sobre todo porque su principal potencial de aplicación es en el tratamiento de trastornos depresivos, de ansiedad o personalidad (ENP), los cuales involucran alteraciones estructurales y funcionales del SNC ^{28,29,87,88}.

Distintas PMS que contienen fitoindoles han demostrado ser útiles en el tratamiento e investigación de ENP ⁸⁹⁻⁹⁴. La ayahuasca es un ejemplo y se ha utilizado en varias ocasiones como fitomedicamento, también se podría aprovechar como fuente de fitofármacos ⁹⁵. El uso medicinal del preparado se considera seguro incluso a largo plazo y tiene un buen perfil de tolerabilidad ⁹⁶⁻¹⁰², desgraciadamente la accesibilidad de las especies que lo componen dificultan su uso en la práctica médica, sin embargo, los principios psicoactivos identificados en la bebida podrían ser una herramienta importante en neuropsiquiatría ⁸⁸.

3.2. Jurema

La jurema prieta es una bebida considerada milagrosa por culturas indígenas de Suramérica, específicamente en Pernambuco al noreste de Brasil ¹⁰³, se trata de una decocción de la corteza de *M. tenuiflora* con propiedades psicoactivas utilizada en ceremonias de “sanación espiritual”, de forma análoga a la ayahuasca ¹⁰⁴. Se ha descrito la existencia de una bebida llamada jurema blanca preparada con la corteza de *Mimosa verrucosa*, sin embargo, a este preparado no se le atribuyen propiedades psicoactivas.

El consumo de jurema prieta se realiza durante un rito ceremonial llamado juremeiro en el que participan diversos elementos como imágenes, tambores, cantos, sahumeros y otras plantas ²². Lamentablemente, la información arqueológica sobre el ritual es prácticamente inexistente, sobre todo porque en el siglo XVI durante la inquisición se trató de erradicar por completo el uso de esta planta entre la población indígena de Brasil ^{22,104}.

Como resultado de la prohibición, el consumo de jurema prieta se volvió clandestino y sectario, reservado para unos pocos iniciados ^{22,104}. Debido a la persecución católica, las comunidades indígenas que practicaban el culto a la jurema prieta

adoptaron un carácter hermético, lo que aumentó la especulación por parte de la comunidad científica ¹⁰⁴.

El principio psicoactivo de la jurema prieta es la DMT, este fitoindol posee gran semejanza estructural con 5-HT ⁸⁵, por tal motivo cuando se administra por vía oral es degradada por la MAO tipo A (MAO A) en el estómago e intestino antes de que pueda absorberse lo suficiente como para llevar a cabo su actividad biológica en el SNC ^{20,21}. La MAO A se produce en el hígado, una de sus funciones es degradar las monoaminas que se introducen a través de los alimentos, esta enzima cataliza la degradación de 5-HT y dopamina (DA), además de otros neurotransmisores ¹⁰⁵.

Por otra parte, MAO tipo B (MAO B) contribuye a la simplificación de DA, aunque su principal función es el metabolismo de feniletilamina y se encuentra principalmente en sangre, mientras que MAO A es más abundante en el sistema digestivo ¹⁰⁵⁻¹⁰⁶. En consecuencia, cuando se emplea DMT como herramienta psicoterapéutica por vía oral, es absolutamente necesario aplicar también algún inhibidor de MAO A ²¹.

Se han identificado algunos fitoindoles en la corteza de *M. tenuiflora*, sin embargo, hasta el momento no se han encontrado alcaloides tipo β -carbolina que funcionen como inhibidores de las MAO A (iMAO A) ^{106,107}, algunos autores han propuesto la existencia de moléculas (diferentes a β -carbolinas) en la corteza de esta especie que posiblemente están funcionando como iMAO ^{81,82}, desafortunadamente no existen ensayos biológicos que aporten información concluyente para poder explicar las propiedades psicoactivas de la jurema prieta.

3.3. *Mimosa tenuiflora*

Mimosa tenuiflora (Willd.) Poir. (Syn. *Mimosa hostilis*) es un tipo de arbusto espinoso de coloración rojiza que tiene de 10 a 30 pares de foliolos, presenta flores amarillas en espigas largas de 3 a 6.5 cm de largo y sus frutos son vainas oblongas de

aproximadamente 2 a 4 cm de largo por 7 mm de ancho ¹⁰⁸. Este árbol pertenece al género *Mimosa* que se clasifica dentro de la subfamilia Mimosoideae de la familia Fabaceae, es una planta nativa de Centro y Suramérica donde habita lugares de clima templado con alta humedad ¹⁰⁹.

Se pueden encontrar distintos grupos poblacionales de *M. tenuiflora* en estados del sur de México. La mayoría de la corteza comercializada proviene de las comunidades de Cintalapa o Jiquipilas (Chiapas, México) ¹¹⁰. Se ha empleado terapéuticamente desde la época precolombina, sin embargo, sus propiedades medicinales psicoactivas no eran aprovechadas en Mesoamérica ¹⁰⁸⁻¹¹⁰.

Los mexicas la llamaban *tepezcuahuit* (tepezcohuite) que proviene de los vocablos en náhuatl *tepus* (fierro) y *cuahuitl* (árbol), haciendo alusión al color de su madera ^{110,111}. El árbol de tepezcohuite es parte de la medicina tradicional mexicana, generalmente se aplica el polvo de la corteza de manera tópica en quemaduras leves para evitar infecciones o favorecer la cicatrización ¹¹¹. Un hecho relevante es que fue utilizada empíricamente de forma masiva por la población afectada en las explosiones de San Juan Ixhuatepec (Estado de México, México) ocurridas en 1984 ¹¹⁰.

El tepezcohuite tiene diferentes aplicaciones terapéuticas dentro de la medicina tradicional mexicana. Se pueden usar infusiones de la corteza para atender la migraña, disminuir la fiebre o aliviar la tos, también se emplea para tratar la gastritis, el dolor de muelas y de estómago ¹¹¹. Los extractos hidroalcohólicos de las hojas tienen propiedades antioxidantes, además de antiinflamatorias, también muestran actividad analgésica y antinociceptiva ^{112,113}.

Por otra parte, preparados de la corteza estimulan la actividad fibroblástica ¹¹⁴. Se ha demostrado que presentan acción antiparasitaria y antifúngica ^{115,116}, también tienen capacidad bactericida contra organismos tanto grampositivos como gramnegativos

¹¹⁶⁻¹¹⁸. Recientemente, se ha observado que el tepezcohuite es de gran utilidad en el tratamiento de úlcera venosa en pacientes con insuficiencia vascular crónica ¹¹⁹.

Algunos de los metabolitos secundarios de *M. tenuiflora* merecen especial atención, ya que son biológicamente activos y podrían tener múltiples aplicaciones terapéuticas. Se han identificado arabigogalactanos, fenoxicromonas, chalconas, esteroides, terpenos, flavonoides y fitoindoles en distintos tejidos de esta especie vegetal ¹²⁰⁻¹²². Los fitoindoles identificados en *M. tenuiflora* se muestran en la figura 1.

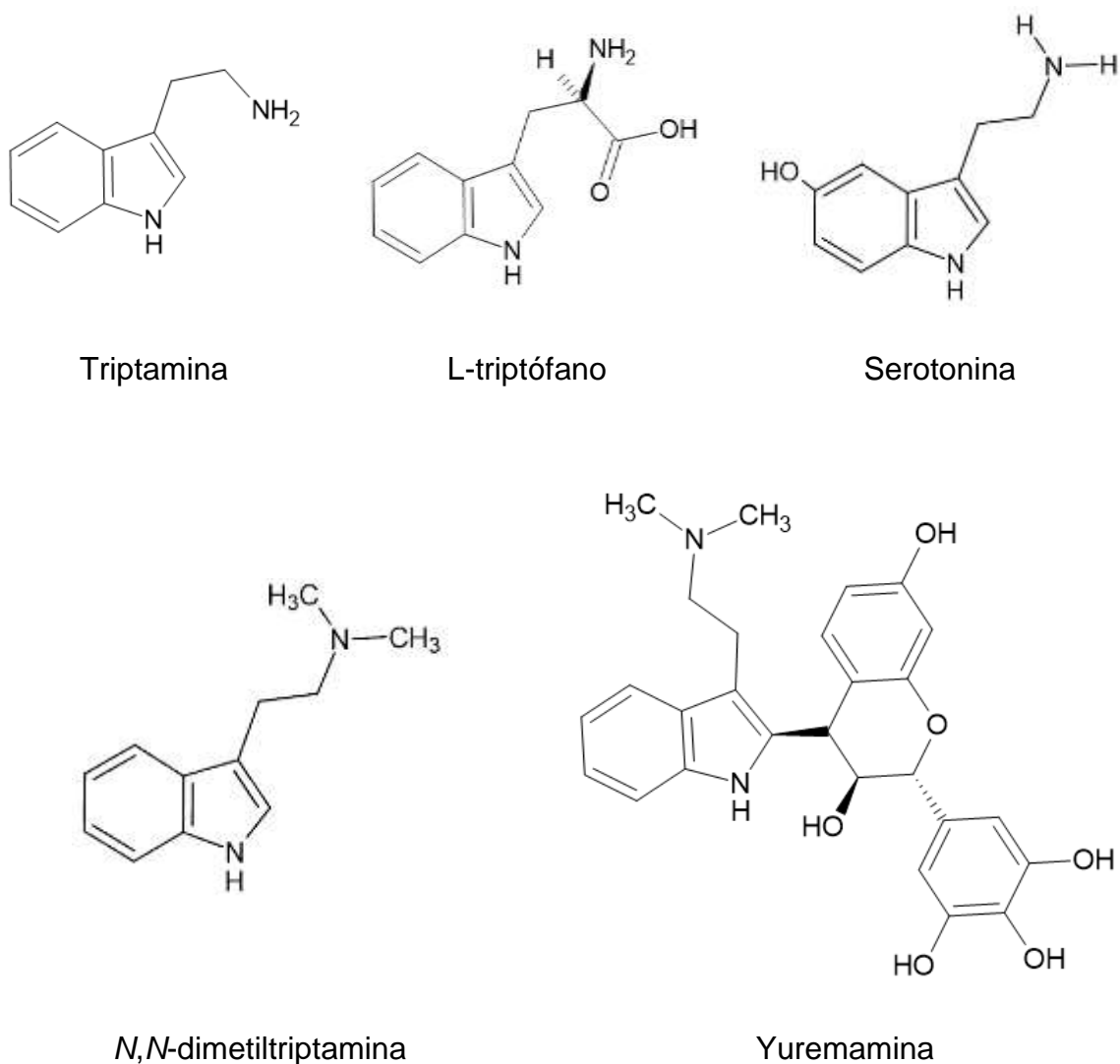


Figura 1. Fitoindoles identificados en *M. tenuiflora*

M. tenuiflora es una fuente potencial de fitofármacos, podría emplearse como fitomedicamento análogo a la ayahuasca ¹⁰⁴, es comercializada en mercados populares de México lo cual representa una gran ventaja ya que facilita la accesibilidad a esta especie vegetal ¹¹⁰. La información científica sobre el uso medicinal de esta PMS para tratar ENP es escasa, por lo que identificar y cuantificar sus principios activos, además de conocer su actividad biológica es indispensable para garantizar su seguridad y eficacia ⁸¹.

La DMT es una de las moléculas aisladas de *M. tenuiflora* con mayor potencial terapéutico, se obtiene principalmente de la corteza o corteza de la raíz ⁶⁵. La DMT se puede administrar con seguridad en dosis entre 0.05 y 0.2 mg/kg por vía intravenosa ^{123,124}, también se puede usar como precursor en la síntesis de distintos fármacos como sumatriptan, zolmitriptan y rizatriptan, que son utilizados para tratar la migraña ¹²⁵. Sin embargo, existen complicaciones que deben considerarse. Las ventajas y desventajas del uso terapéutico de DMT se enlistan en la tabla III.

Tabla III. Ventajas y desventajas del uso terapéutico de DMT

Ventajas	Referencia	Desventajas	Referencia
No produce tolerancia ni dependencia fisiológica	28, 29, 126	Existe riesgo de presentar reacciones adversas a dosis altas (> 0.2 mg/kg)	123, 124
Tiene actividad biológica en humanos a dosis bajas (>0.05 mg/kg)	123, 124	Para el uso clínico es indispensable la supervisión médica y el acompañamiento psicológico del paciente	28, 29, 88
Bajo riesgo de presentar reacciones adversas en dosis terapéuticas (0.05-0.2 mg/kg)	123, 124	Se deben optimizar las técnicas de obtención y análisis fisicoquímicos	61, 62, 66
Se puede obtener de fuentes naturales	66	Es necesario el desarrollo de medidas para asegurar el bienestar de las fuentes naturales y su ecosistema	127, 128
Sustituye a fármacos tóxicos y poco efectivos, con riesgo de muerte por sobredosis	28, 29	Es importante diseñar una regulación adecuada sobre la producción, distribución y venta	127, 128
Tiene múltiples aplicaciones terapéuticas y podría utilizarse como precursor en la síntesis de principios activos	58, 125	En algunos casos es poco accesible	20, 90

En México, es habitual la aplicación medicinal de la corteza de *M. tenuiflora*¹¹¹, en consecuencia, para el manejo y uso terapéutico adecuado se debe considerar que se han cuantificado hasta 9.35 miligramos de DMT por gramo de corteza en poblaciones silvestres⁶¹, sin embargo, no hay investigaciones que aporten datos sobre la concentración de DMT en muestras de la corteza de *M. tenuiflora* comercializadas.

El contenido de DMT en la corteza de tepezcohuite puede cambiar significativamente en distintas poblaciones^{61,65}. La producción de metabolitos secundarios varía debido a características genotípicas, a la exposición a diversos microambientes, también a que disponen de distintos tipos de nutrientes en diferentes cantidades^{59,60,84}. En general, se sabe poco de cómo afecta el origen poblacional, proceso de recolección o condiciones de almacenamiento en el contenido químico de la corteza de *M. tenuiflora*.

3.4. Biosíntesis de *N,N*-dimetiltriptamina

El primer paso en la producción biológica de la DMT es la descarboxilación del *L*-triptófano regulada por la *L*-aminoácido aromático descarboxilasa (AADC), posteriormente ocurre la metilación del grupo amino catalizado por la enzima indoletilamina *N*-metiltransferasa (INMT), donde el grupo metilo es donado por *S*-adenosil metionina (SAM), posteriormente la INMT añade un segundo metilo al grupo amino para completar la formación de la DMT^{129,130}. En la Figura 2 se esquematiza la biosíntesis de DMT.

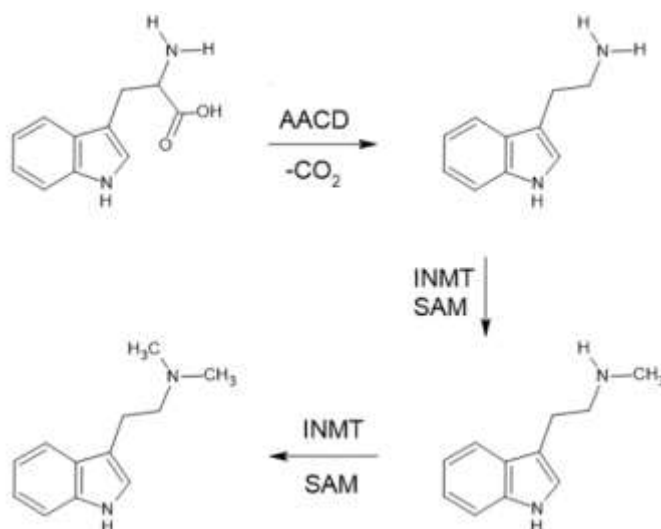


Figura 2. Biosíntesis de la *N,N*-dimetiltriptamina

3.5. *N,N*-dimetiltriptamina

La DMT se ha identificado tanto en tejidos animales como vegetales, se aisló por primera vez en 1942 a partir de la corteza de la raíz de *M. tenuiflora*¹³¹, sin embargo, solamente se conocía la fórmula empírica. La estructura química exacta de este fitoindol se descubrió hasta 1955 utilizando para ello las semillas de *Paenonia*

peregrina ¹³², las propiedades psicoactivas de DMT fueron confirmadas un año después, en 1956 ⁶⁶.

La DMT está conformada por un anillo de benceno unido por enlaces covalentes sencillos a los carbonos (sp_2) en las posiciones dos y tres de un anillo *1H*-pirrol, los cuales conforman el núcleo tipo indol, que a su vez tiene un sustituyente *N,N*-dimetiletilamina en la posición β con respecto al nitrógeno heterocíclico. En general, las estructuras de indol tienen carácter hidrofóbico.

Es un sólido amorfo amarillento, no obstante, puede formar estructuras cristalinas de color blanco, lo cual depende de la metodología de purificación ⁶². Tiene una masa molecular de 188.22 g/mol, un punto de fusión entre 53.5° y 57.5° C ^{62,66}. En su forma de base libre es soluble en varios disolventes orgánicos apolares particularmente en hexano (Hex) y diclorometano, en su forma de sal es soluble en agua y soluciones ácidas, su pKa es de 8.68 y su máximo de absorción UV está en 275 nm ⁶⁶.

Esta molécula se produce de manera endógena en humanos, desarrolla un importante papel biológico ya que se relaciona con el estado de conciencia inducido por las experiencias cercanas a la muerte o epifanías, se asocia con la fabricación de sueños, con la creatividad ¹³³⁻¹⁴⁰ y el pensamiento abstracto debido a que estimula la producción de imágenes mentales ¹⁴⁰, también se ha demostrado su participación en la regulación de las emociones ¹²⁶.

Se ha identificado DMT en distintos organismos vegetales, dentro de los géneros *Phalaris*, *Delosperma*, *Acacia*, *Desmodium*, *Virola*, *Psychotria* y *Mimosa* ¹²⁶. Se puede encontrar DMT en diferentes concentraciones distribuida por varios tejidos ¹⁰⁴, se localiza en las hojas y flores, pero existe una mayor cantidad en la corteza, posiblemente por las funciones biológicas que desarrolla en la planta ⁶⁵.

Los psicoplastógenos son moléculas capaces de inducir cambios estructurales o funcionales en el SNC. La DMT es un psicoplastógeno con bastantes ventajas sobre los tratamientos para ENP convencionales, promueven la plasticidad neuronal y modulan algunas facultades cognitivas ²⁸. La DMT tiene un gran potencial de aplicación terapéutica como antidepresivo, ansiolítico, antipsicótico, antiadictivo, antiamnésico, neuroprotector, neurogénico y sinaptogénico entre otros, en la tabla IV se reúnen las aplicaciones terapéuticas potenciales de la DMT.

Tabla IV. Aplicaciones terapéuticas potenciales de la DMT

Enfermedad neuropsiquiátrica	Aplicación	Referencia
Trastornos depresivos	Antidepresivo	28,142-148
Trastornos de ansiedad, trastornos de personalidad y trastorno obsesivo compulsivo	Ansiolítico	75,76,89,146,147,149
Psicosis	Antipsicótico	150,151
Estrés postraumático	Antiamnésico	20, 94
Farmacodependencia	Antiadictivo	152-154
Enfermedades neurodegenerativas	Neuroprotector, neurogénico y sinaptogénico	155,156
Lesión nerviosa	Neurogénico, sinaptogénico	156,157
Dolor neuropático	Antinociceptivo	133,158,159
Migraña	Precursor en la síntesis de triptanes	125
Afantasia	Estimulante visual	96, 141

Existen varias metodologías para sintetizar DMT, sin embargo, involucran el uso de materias primas y disolventes, además de un gran número de condiciones específicas en ambientes controlados, lo que complica el proceso de obtención ¹⁶⁰⁻¹⁶³. Por otra parte, se ha demostrado que es posible aislar DMT de tejidos vegetales

con rendimientos entre 0.10% y 0.35% para su uso como referencia analítica e incluso para su aplicación terapéutica ^{65,66}.

El diagnóstico correcto y la dosificación adecuada son aspectos fundamentales para el uso medicinal de la DMT, debido a que las personas con ENP pueden ser especialmente vulnerables a la automedicación ^{164,165}. Este alcaloide podría funcionar como auxiliar en el tratamiento de ENP, ya que se considera un catalizador de procesos psicoterapéuticos, sin embargo, el acompañamiento médico y psicológico juegan un papel determinante en la recuperación del paciente ¹⁰³.

3.6. Efectos subjetivos vinculados a *N,N*-dimetiltriptamina

Los efectos observados a nivel subjetivo varían en cada persona dependiendo de la dosis, expectativa, marco cultural, contexto de la experiencia, estado emocional e historia personal. Por lo general, el individuo experimenta alegría, euforia, confort y percepción distorsionada del tiempo, las personas que consumieron DMT comunicaron que percibieron un aumento en la vivacidad de los colores e intensidad de los sonidos. En algunos casos se puede observar sinestesia, despersonalización o desrealización ^{20,35,141}.

La DMT produce experiencias oníricas agudas que son terapéuticas a largo plazo sobre todo en aspectos psicosociales, aumenta la percepción de bienestar, lo que impacta positivamente en la calidad de vida, induce una mayor sensibilidad a estímulos tanto externos como internos, debido a que modifica el procesamiento de información en circuitos de retroalimentación inhibitorios cortico-estriado-tálamo-corticales que intervienen en la activación sensorial de información interna y externa ¹⁶⁶.

A dosis altas (> 0.2 mg/kg), es posible observar paranoia, delirio de persecución, agitación, confusión o mal estar general, la administración de DMT en un contexto inadecuado aumenta la posibilidad de que se presenten los efectos antes

mencionados, además de otros efectos subjetivos que dependen totalmente de la historia clínica y personal del paciente, por esta razón es crucial hacer una valoración individualizada antes de utilizar DMT como herramienta terapéutica ^{21,123,124,167}.

3.7. Consideraciones farmacológicas para la aplicación terapéutica de *N,N*-dimetiltriptamina

La DMT es un bioisómero de 5-HT, es decir que tienen una estructura molecular análoga, esta similitud permite al alcaloide mimetizar algunas de las funciones endógenas de 5-HT debido a que interactúan con los mismos tipos de receptores celulares, por ende, estimulan las mismas vías de señalización, también puede interactuar con proteínas transportadoras para 5-HT y seguir las mismas rutas metabólicas ^{85,168}.

El átomo de nitrógeno en el anillo de indol aporta un par de electrones que mantiene estable el sistema aromático, esto provoca que el protón en el grupo N-H tenga carácter ácido, este protón puede formar puentes de hidrógeno con sus receptores o proteínas diana, también logra inducir el acoplamiento de electrones π - π o π -cación, a través del sistema aromático ¹⁶⁹. Las variaciones estructurales de las triptaminas exógenas son de gran relevancia debido a que determinan como se lleva a cabo la interacción con receptores y proteínas ²⁹.

Las variaciones en la actividad de diferentes tipos de moléculas sugieren que los receptores 5-HTR son sensibles a cambios en la estructura de las triptaminas, los agonistas de este tipo de receptores pueden activar selectivamente un subconjunto de proteínas efectoras ¹⁶⁸. El grupo N-H del indol es de especial relevancia en la interacción con los receptores 5-HTR ^{85,168}.

Cuando existen ENP un grupo de neurotransmisores que modulan las emociones y el estado de ánimo como la 5-HT, DA, glutamato (Glu), acetilcolina (ACh) o ácido γ -aminobutírico (GABA) se ven afectados en su biosíntesis, liberación y metabolismo

^{85,28-31,168}. Dentro de la fisiopatología de las ENP es necesario considerar que la producción de ondas cerebrales tipo α (8-12 Hz) aumenta en personas con trastornos depresivos o de ansiedad ^{100,171}.

En los pacientes que sufren de trastorno depresivo se pueden observar niveles bajos en la producción del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y el factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF) ³⁵, el estrés oxidativo neural o la neuroinflamación crónica de grado bajo también se asocian directamente con este tipo de enfermedades ^{158,159}, en dichos pacientes se ha observado el aumento en la producción de citocinas pro inflamatorias como IL-6, IL-8, IL-1 β además del factor de necrosis tumoral (TNF α) ¹⁷²⁻¹⁷⁴.

3.8. Farmacodinamia de *N,N*-dimetilriptamina

La DMT interactúa con las familias de receptores para 5-HT 1A, -1B, -1D, -1E, -2A, -2B, -2C, -5A, -6 y -7 con un rango de afinidad entre 39 nM y 2.1 μ M ¹³¹. Algunos miembros de estas familias regulan funciones a nivel de sistema nervioso periférico (SNP) en propiocepción o vasodilatación, otros como 5-HT₆R y 5-HT₇R están implicados en procesos tanto cognitivos como estructurales ²⁰. Los receptores para 5-HT son de especial relevancia en el tratamiento de ENP ²⁹.

De igual forma, la DMT es agonista de los receptores 5-HT_{2A}R y 5-HT_{2C}R presinápticos con afinidades de 127 nM y 360 nM respectivamente ⁸⁵, estos receptores están acoplados a una proteína G_{q/11}, regulan la liberación de Ca²⁺ en el retículo endoplásmico por la vía PLC, PI(4,5)P₂, IP₃-DAG ³⁵, lo que estimula la liberación de vesículas presinápticas, aumentando la concentración de 5-HT, se localizan principalmente en la corteza prefrontal y los núcleos de rafe. Se ha demostrado clínicamente que los agonistas de receptores 5HT_{2A}R producen inhibición dosis dependiente de ondas cerebrales tipo α ¹⁷¹.

Los núcleos de rafe tienen proyecciones neuronales hacia estructuras cerebrales involucradas en la memoria, regulación del estado de ánimo, toma de decisiones y comportamiento condicionado a estímulos como la corteza prefrontal (CPF), amígdala, hipocampo, cuerpo estriado (CE), núcleo accumbens (NA) y área tegmental ventral (ATV). Se ha observado que los agonistas de 5-HT_{2A}R y 5-HT_{2C}R disminuyen la concentración de DA en casi todas las estructuras que involucra la vía dopaminérgica ¹⁷⁵.

La DMT no estimula la adenilato ciclasa sensible a DA, tiene baja afinidad por los receptores dopaminérgicos, no obstante los 5-HT_{2A}R pueden formar heterómeros con la familia de receptores para dopamina D₂R acoplados a proteínas G_i y G_o ⁹⁴, sin embargo, no se ha demostrado que este sistema esté involucrado en los efectos dopaminérgicos observados, en general se considera que la DMT carece de efectos directos sobre las concentraciones de DA ^{94,175}.

5-HT_{2A}R puede formar heterorreceptores con el receptor metabotrópico mGluR_{2/3} ¹²⁶ que producen segundos mensajeros que aumentan la expresión de los genes Erg1 y Erg 2 responsables de codificar BDNF ³⁵, el cual estimula el desarrollo de las dendritas en neuronas corticales, aumentan la neuroplasticidad, neurogénesis y psinaptogénesis, este mecanismo no se activa por las interacciones de ninguno de los receptores por separado ¹⁴⁵.

Los receptores 5-HT_{2A}R regulan la producción de endocannabinoides como anandamida (ADA) y 2-araquidilglicerol (2-AG) en estructuras cerebrales asociadas con las emociones o el estado de ánimo como la amígdala, además de CPF ¹⁷⁶, este proceso puede estar involucrado con el efecto ansiolítico y antidepressivo de la DMT. Los agonistas de 5-HT_{2A}R producen un descenso en la concentración de ADA acompañado de un aumento de 2-AG que se relacionan con una disminución en el estrés y ansiedad ¹⁷⁷.

Existe un aumento dosis-dependiente en los niveles sanguíneos de β endorfina tras la administración de DMT, lo que sugiere que hay actividad analgésica a través de la

estimulación de receptores μ opioides, adicionalmente este fitoindol actúa como un agonista en los receptores 5-HT_{1A}R^{123,178} que está vinculado al efecto antinociceptivo observado en pacientes tratados con la molécula¹⁴⁵.

La estimulación endógena de autorreceptores 5HT_{1A}R somato dendríticos, ubicados en los núcleos de rafe inhiben la liberación de 5-HT en otras estructuras del cerebro, algunos agonistas de 5-HT_{1A}R pueden producir la desensibilización de estos receptores, en consecuencia aumenta la concentración de 5-HT en la vía serotoninérgica^{110,178}, esta es la base del tratamiento convencional de los trastornos depresivos y de ansiedad.

DMT inhibe la captura de 5-HT por el transportador de 5-HT (SERT) y el transportador vesicular de monoaminas tipo 2 (VMAT2) con constantes de inhibición (K_i) de 4 y 93 respectivamente, SERT traslada la DMT hacia el interior de la neurona donde se acumula en vesículas sinápticas debido a la acción de VMAT2, la acumulación de DMT puede durar hasta una semana y luego liberarse por estímulos adecuados, los mismos estímulos que producen la liberación de 5-HT¹²⁶.

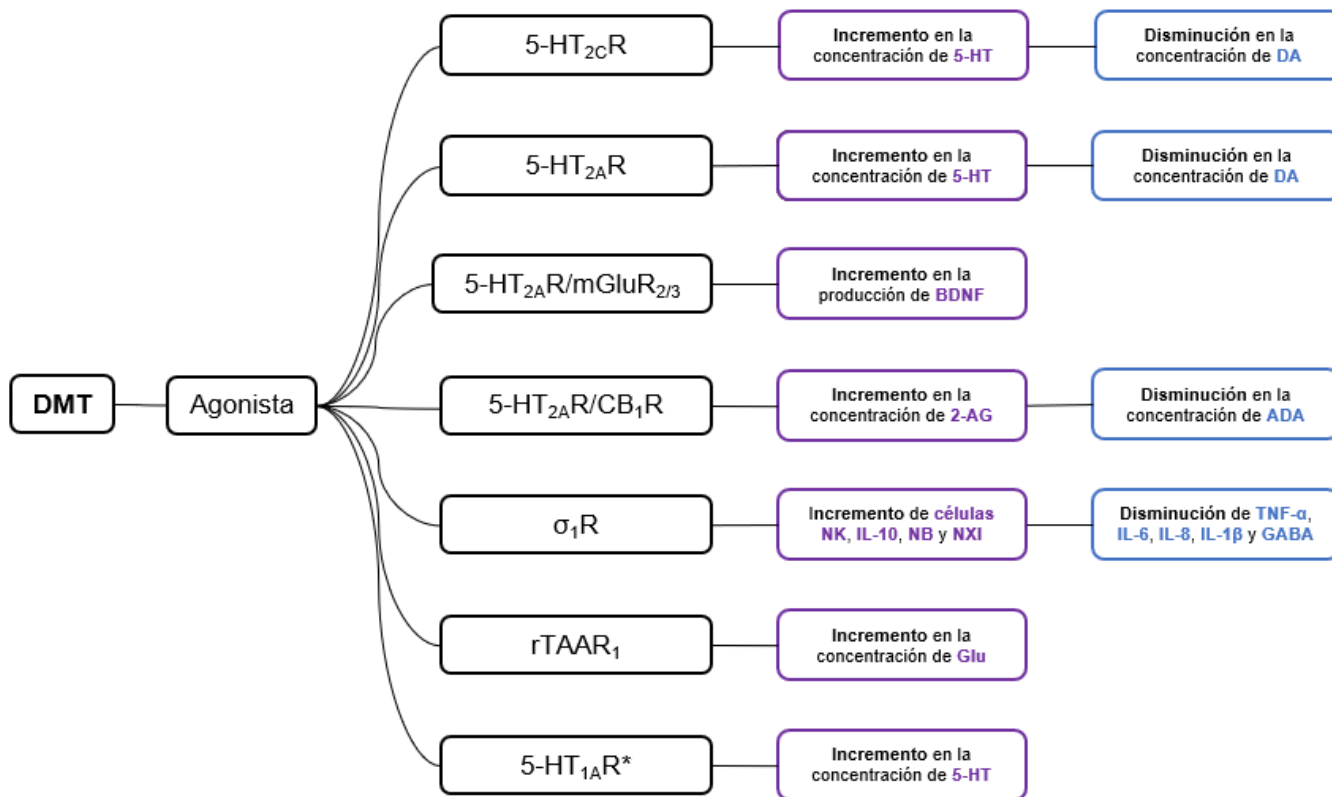
La DMT es un ligando endógeno de σ_1 R, tiene un papel fundamental en neuroprotección, neuroregeneración y plasticidad neuronal ya que su activación incrementa la expresión de neurabina (NB) y neuroxina I (NXI), proteínas involucradas en la formación de neuritas, además de procesos sinápticos, este tipo de receptores regulan el nivel de Ca²⁺ intracelular a través de la inactivación de canales K⁺ dependientes de voltaje^{179,180}. Adicionalmente, los agonistas de σ_1 R están relacionados con una disminución dosis-dependiente de GABA en la amígdala³⁸.

Los receptores σ_1 R y 5-HT_{2A}R modulan algunos aspectos de la respuesta inmune, la DMT previene la neuroinflamación inhibiendo la producción de linfocitos, interleucinas proinflamatorias (IL-6, IL-8, IL-1 β) y TNF α ¹⁷², también inducen la proliferación de células NK, se ha observado aumento en los niveles de IL-10 y cortisol que contribuyen al efecto anti inflamatorio¹³⁵.

Los agonistas de σ_1R previenen el estrés oxidativo neural debido a que disminuyen los niveles del ion Ca^{+2} intracelular que a su vez modula la producción de especies reactivas de oxígeno mitocondriales, reduce los efectos de inflamación crónica de grado bajo y regula varias funciones microgliales, estas propiedades podrían aprovecharse para tratar procesos de proliferación tumoral tanto en SNP como SNC ^{135,136}. Los receptores σ_1R pueden formar heterorreceptores con D_2R , lo que repercute en los niveles de DA ⁹⁴.

La activación de σ_1R en la amígdala regula la función del heterorreceptor formado por CB_1R y NMDA, lo que repercute en los niveles de Glu ⁹⁴. La DMT reduce significativamente las cantidades de ACh en el cuerpo estriado, hecho que sugiere que se estaría modificando la liberación de este neurotransmisor a través de mecanismos sinápticos que involucran la activación de receptores para ACh muscarínicos (mAChR) y nicotínicos (nAChR) ¹²⁶.

Los receptores ligados a aminas traza (TAAR) están asociados con la actividad endógena y exógena de la DMT ^{136,137}. El receptor rTAAR₁ esta acoplado a proteínas G_q , guarda cierta homología con receptores para catecolaminas, la DMT tiene gran afinidad por éste receptor y es un agonista del mismo. Los agonistas de rTAAR₁ y σ_1R inducen la actividad de receptores NMDA los cuales regulan los niveles extracelulares de Glu. ^{20,126}. Las interacciones fármaco-receptor más relevantes se esquematizan en la figura 3.



DMT produce la desensibilización de los receptores 5-HT_{1A}R somato dendríticos ²⁰

Figura 3. Interacciones fármaco-receptor de la DMT

Varios estudios muestran que las β-carbolinas tienen efectos serotoninérgicos directos a través de la interacción con receptores 5-HTR, estos fitoindoles tienen propiedades antioxidantes, son neuroprotectores, además modulan la neurotransmisión dopaminérgica, colinérgica y glutaminérgica, también pueden interactuar con canales de membrana activados por voltaje o participar en la eliminación de radicales libres de oxígeno en la célula ¹⁸¹⁻¹⁸³.

3.9. Farmacocinética de *N,N*-dimetiltriptamina

La DMT se excreta mayormente por la orina y sus principales metabolitos son el ácido indol-3-acético y la *N*-oxi-DMT. Hay evidencia de que enzimas citocromo P450 (CYP) y peroxidasas pueden degradar algunas triptaminas ^{183,184}, sin embargo, la desaminación oxidativa catalizada por MAO A ⁸⁹ (Fig. 4) es la vía metabólica predominante. Otros metabolitos obtenidos por la actividad de MAO A son *N*-metiltriptamina, 6-hidroxi-DMT y 6-hidroxi-*N*-oxi-DMT. ¹⁸³⁻¹⁸⁵.



Figura 4. Reacción general de la desaminación oxidativa catalizada por MAO A

Cuando se administra por vía oral en compañía de un iMAO la desaminación oxidativa de la DMT no ocurre, en consecuencia se absorbe en concentraciones suficientes para alcanzar niveles plasmáticos adecuados para que pueda atravesar la barrera hematoencefálica ^{104,184}. Aunque la DMT tiene naturaleza lipofílica se ha propuesto que cruza la membrana plasmática endotelial por procesos de transporte activo (dependientes de Mg²⁺ y ATP) ¹²⁵. En la figura 5 se esquematiza la acumulación y eliminación de DMT.

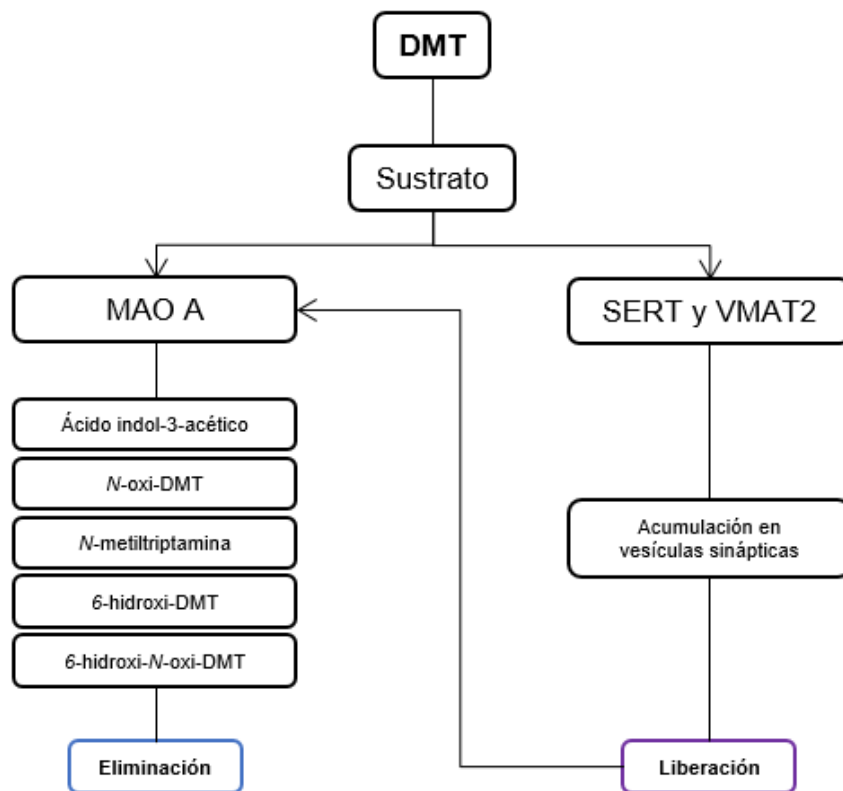


Figura 5. Acumulación y eliminación de la DMT

La DMT no inhibe la actividad de ninguna de las enzimas de la familia CYP involucradas en el metabolismo de otros fármacos que podrían aplicarse de forma conjunta ¹⁸⁶, la administración de DMT con otras moléculas se puede hacer con seguridad, ya que la probabilidad de que se presenten reacciones adversas medicamentosas es baja, sin embargo, se deben considerar las interacciones farmacológicas para cada caso en particular, debido a que varios fitoindoles inhiben CYP3A4 y CYP2D6 ^{186,187}.

La psicoactividad de DMT en compañía de un iMAO administrados por vía oral (0.6-0.85 mg/kg) se observa a los 60 min, mostrando un máximo a los 90 min, para desaparecer después de 4 h ¹²⁶, el tiempo de vida media por esta vía es de 5 a 15 min, pero puede extenderse si se administra adicionalmente un iMAO ⁷⁵. Con base

en los resultados de experimentos hechos en roedores se estima que la dosis letal media en humanos es de 8 mg/kg por vía oral ¹⁸⁸.

Cuando se administra DMT por vía intravenosa (0.1-0.4 mg/kg) es psicoactiva ¹²⁶. Se observan efectos subjetivos entre los 90 y 120 s que desaparecen a los 30 min ¹⁸¹, por vía intramuscular (0.7 mg/kg) se presentan efectos psicoactivos aproximadamente a los 5 min, que se sostienen entre 30 y 60 min ¹⁸⁹, tanto por vía intranasal como por vía rectal carece de actividad biológica en SNC ¹²⁶.

Los pacientes que recibieron dosis de DMT entre 0.05 y 0.2 mg/kg por vía intravenosa experimentaron efectos subjetivos de leves a moderados, sin embargo, se mantuvieron en estado consciente, no manifestaron malestar físico ni psicológico y su presión arterial no mostro ningún cambio significativo ^{123,124}. Los sujetos a los que se les administraron dosis de 0.4 mg/kg por la misma vía presentaron alucinaciones y algunos sufrieron distorsión significativa en la percepción del tiempo y el espacio ¹²⁴.

4. Planteamiento del problema

Existen distintos trabajos en los que se ha aislado e identificado DMT en *M. tenuiflora*, sin embargo, las metodologías aplicadas para cuantificar esta molécula en muestras biológicas (vegetales y animales) son limitadas debido a que involucran el uso de instrumental que en la mayoría de los casos es poco accesible, por ejemplo cromatografía de gases o espectrometría de masas.

La necesidad de emplear una referencia analítica de DMT es una complicación adicional, generalmente el estándar se adquiere comercialmente, ahora bien, existen procesos e investigaciones que no cuentan con esa posibilidad, en esos casos la obtención de una molécula de referencia analítica partir de una especie vegetal adquiere especial relevancia.

En la práctica médica popular de nuestro país generalmente se emplea la corteza de tepezcohuite que se compra en mercados populares. El contenido de DMT cambia significativamente en distintas poblaciones ^{61,65}. Por otra parte, las condiciones tanto de transporte como de almacenamiento podrían afectar el contenido químico de la corteza. Existe poca información sobre las cantidades de DMT en muestras de tepezcohuite comercializadas en México.

Por otra parte, el trabajo etnobotánico sobre el uso tradicional de la jurema prieta es bastante limitado debido a que las comunidades que lo consumen están prácticamente extintas y las fuentes directas de información son muy escasas, existe controversia sobre el contenido de esta bebida ya que no hay forma de saber con exactitud si la corteza es el único ingrediente del preparado o es una mezcla de especies ¹⁰³.

4.1. Justificación

El desarrollo de métodos analíticos empleando HPLC-UV aportará alternativas para los procesos e investigaciones que no cuenten con la posibilidad de adquirir un estándar de referencia comercial de DMT o que no tengan la oportunidad de acceder al instrumental necesario para la identificación y cuantificación de DMT en la corteza de *M. tenuiflora*, plasma y tejido cerebral.

La cuantificación de DMT en muestras de la corteza de *M. tenuiflora* adquiere relevancia en los países donde es utilizada como fitomedicamento, por otra parte, la determinación de la concentración de DMT en plasma y tejido cerebral también representa una contribución en la práctica médica para análisis toxicológicos y forenses.

Ya que no se conoce con certeza la composición de la jurema prieta hay especulación en relación a su uso tradicional y posible aplicación terapéutica. Evaluar la actividad de monoamino oxidasas después de la administración del

extracto nos permitirá saber si la corteza de *M. tenuiflora* podría proponerse como una opción análoga a la ayahuasca en el tratamiento e investigación de ENP.

5. Hipótesis

Si se obtiene una referencia analítica de DMT a partir de la corteza de *M. tenuiflora*, se podrán desarrollar y evaluar métodos analíticos empleando HPLC-UV para cuantificar la molécula en diferentes matrices biológicas.

6. Objetivos

6.1. Objetivo general

Desarrollar métodos analíticos empleando HPLC-UV para cuantificar DMT en distintas matrices biológicas. Además, evaluar el efecto del extracto metanólico de *M. tenuiflora* sobre la actividad de las enzimas MAO A y MAO B.

6.2. Objetivos específicos

- Aislar y purificar DMT mediante una extracción orgánica a partir de la corteza de *M. tenuiflora* para utilizarla como referencia analítica.
- Identificar la DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora* por HPLC-DAD para cuantificarla.
- Establecer condiciones de análisis adecuadas para la cuantificación de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora*, plasma y tejido cerebral murinos por HPLC-UV.
- Cuantificar DMT en el extracto metanólico de la corteza de *M. tenuiflora* utilizando HPLC-UV para comprobar la aplicabilidad del método analítico desarrollado.

- Determinar la concentración de DMT en plasma y tejido cerebral murinos usando HPLC-UV después de administrar distintas dosis del fármaco para demostrar la aplicabilidad de los métodos analíticos desarrollados.
- Medir la actividad *in vivo* e *in vitro* de MAO en tejido cerebral murino después de recibir tratamiento con diferentes dosis del extracto metanólico de la corteza de *M. tenuiflora* para proporcionar información que contribuya a explicar las propiedades psicoactivas de la jurema prieta, así como para aportar datos para su posible aplicación terapéutica en el tratamiento de ENP.

7. Materiales y métodos

7.1. Identificación de *M. tenuiflora*

La corteza de *M. tenuiflora* se adquirió comercialmente en el mercado de Sonora (Ciudad de México, México), posteriormente se almacenó en un ambiente seco y oscuro, las muestras fueron trituradas justo antes de iniciar el proceso de extracción. La identificación del material vegetal fue realizada en el Instituto de Biología de la UNAM en Ciudad de México. La muestra fue depositada en la Colección Etnobotánica del Jardín Botánico, sin embargo, el voucher de herbario se encuentra en trámite debido a las condiciones sanitarias regionales y mundiales.

7.2. Obtención de la referencia analítica de *N,N*-dimetiltriptamina

Para la obtención de DMT se realizó una extracción por maceración durante 24 h empleando 500.0 g de la corteza de *M. tenuiflora* en 1 L de ácido clorhídrico (HCl) 0.1 M, la solución acuosa se desengrasó por partición líquido-líquido con 500 mL de Hex, posteriormente se alcalinizó con una solución 1 M de hidróxido de sodio (NaOH) hasta alcanzar un pH=11.0 ⁶⁶.

Por último, se realizó una extracción por partición líquido-líquido con Hex y se retiró el disolvente por evaporación rotatoria a presión reducida, se obtuvieron 511.3 mg

de crudo alcaloideo, el cual se disolvió en 10 mL de Hex a 35°C y se agitó durante 25 min manteniendo estable la temperatura y el volumen de disolvente por reflujo, se sometió a baño de hielo y se retiró el disolvente por evaporación a presión y temperatura normales ⁶⁶.

Se determinó el punto de fusión del producto obtenido ^{62,66} y se analizó por cromatografía en capa fina (TLC) utilizando cromatoplasmas de aluminio con silicagel 60 recubierta con indicador fluorescente F₂₅₄ y como fase móvil MeOH/NH₄OH (9.9/0.1) ¹⁹⁰. La cromatoplasma se reveló por aspersion con reactivo de Dragendorff que sirve para la identificación general de alcaloides. De forma complementaria se reveló con el reactivo de Erlich's, el cual es para la identificación específica de alcaloides indólicos ¹⁹¹⁻¹⁹³. El R_f se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$R_f = \frac{D_s}{D_{fm}}$$

Donde:

D_s =Distancia recorrida por el soluto

D_{fm} =Distancia recorrida por la fase móvil

7.3. Identificación de *N,N*-dimetilriptamina por NMR ¹H y ¹³C

La caracterización por resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono se realizó utilizando un equipo Agilent® DD2 que opera a 600 MHz para hidrógeno y a 151 MHz para carbono, utilizando tetrametilsilano como referencia interna y cloroformo deuterado como disolvente, los espectros fueron procesados con el software MestReNova y los desplazamientos químicos fueron registrados en ppm (δ). Este equipo está ubicado en el Departamento de Sistemas Biológicos de la UAM-Xochimilco.

Se realizó la identificación estructural del compuesto mediante los espectros de NMR ^1H y NMR ^{13}C (Fig. 9). Se llevó a cabo la asignación de las señales observadas, las formas y desplazamientos químicos de dichas señales se compararon con las reportadas para un estándar de referencia de DMT aislado de la corteza de *M. tenuiflora*⁶⁶.

7.4. Determinación de la pureza de la referencia analítica de *N,N*-dimetiltriptamina

Se desarrollaron y optimizaron las condiciones para la identificación y determinación de la pureza de la referencia analítica de DMT por HPLC-DAD. Se pesaron 2.0 mg, se depositaron en un matraz de 2 mL y se llevó a volumen con ACN para obtener una solución de la referencia analítica de DMT a una concentración de 1.0 mg/mL.

Como fase móvil se utilizó una mezcla de ACN y ácido trifluoroacético (TFA) con un gradiente de 7 % hasta 93 % de ACN en 25 min a un flujo de 1.2 mL/min, como fase estacionaria se empleó una columna CN, se usó un detector con arreglo de diodos en modo escaneo (190-400 nm) para obtener el cromatograma en 3D. Los cromatogramas fueron procesados con el programa ChemStation, las condiciones seleccionadas para el análisis se enlistan en la tabla V.

Tabla V. Condiciones cromatográficas para el análisis de la DMT aislada de *M.tenuiflora* y el extracto metanólico de *M. tenuiflora*.

Equipo		Condiciones	
Cromatógrafo:	Agilent® 1200	Fase móvil:	ACN (A), TFA 0.1 % (B)
Columna:	ZORBAX-SB CN (100 mm X 4.6 mm, 3µm)	Gradiente*:	0-25 min: 7% - 93% A 25-30 min: 93% A
Detector:	DAD (λ =190-400 nm) y UV (λ =275 nm)	Proporción**:	A 29%, B 71% (12 min)
		Volumen de inyección:	10 µL
		Flujo:	1.2 mL/min

* Determinación de la pureza de la DMT aislada de *M.tenuiflora*

** Identificación y cuantificación de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora*

Para calcular la pureza se empleó la siguiente expresión matemática:

$$\% \text{ Pureza} = \frac{ABC_{DMT}}{\Sigma ABC} \cdot 100$$

Donde:

ABC_{DMT} = Área bajo la curva de la señal perteneciente a la referencia analítica de DMT

ΣABC = Sumatoria del área bajo la curva de todas las señales detectadas durante el análisis

7.5. Identificación de *N,N*-dimetiltriptamina en el extracto metanólico de *M. tenuiflora*

Preparación del extracto

Se colocaron 100.0 g de la corteza de *M. tenuiflora* en maceración con 450 mL de MeOH a 5°C durante 14 días con agitación ocasional. El extracto se filtró por gravedad y el disolvente fue retirado por evaporación rotatoria a presión reducida ⁶⁴. El extracto se analizó por TLC utilizando como fase móvil una mezcla de MeOH/AcOEtO/HCOOH, (6.95/2.95/0.1). La cromatoplaque se reveló por aspersion con reactivo de Dragendorff y Erlich's ¹⁹¹⁻¹⁹³.

Identificación de *N,N*-dimetiltriptamina en el extracto metanólico de *M. tenuiflora* por HPLC-DAD

Para realizar la identificación de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora* por HPLC-DAD se pesaron 2.0 mg de la referencia analítica de DMT (Pureza: 98 %). Se depositaron en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con ACN para obtener una solución de la referencia analítica de DMT a una concentración de 1.0 mg/mL, posteriormente se depositaron 50 µL de la solución en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con ACN (25 µg/mL). Las condiciones cromatográficas utilizadas se organizan en la tabla IV.

Para la cuantificación de DMT se pesaron 4.0 mg del extracto por duplicado, se depositaron en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con fase móvil para obtener una solución del extracto metanólico de *M. tenuiflora* a una concentración de 2.0 mg/mL. En la tabla IV se pueden observar las condiciones para el análisis cromatográfico.

7.6. Cuantificación de *N,N*-dimetiltriptamina en el extracto metanólico de *M. tenuiflora* por HPLC-UV

Se pesaron 2.0 mg de la DMT aislada de *M. tenuiflora* y se suspendieron en 2 mL de ACN en un matraz volumétrico, de esa solución se tomó una alícuota de 200 μ L en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con fase móvil para obtener una solución stock a una concentración de 0.1 mg/mL. Se desarrollaron y optimizaron las condiciones para la cuantificación de DMT en el extracto de *M. tenuiflora* por HPLC-UV, los parámetros seleccionados para el análisis se enlistan en la tabla IV.

Para construir la curva de calibración se midieron siete puntos con concentraciones de la referencia analítica de DMT entre 5.0 μ g/mL y 100.0 μ g/mL, posteriormente se graficó el área de la señal correspondiente a DMT en relación a la concentración en μ g/mL de cada punto.

Preparación de la muestra

Se pesaron 4.0 mg del extracto, se depositaron en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con fase móvil para obtener una solución del extracto metanólico de *M. tenuiflora* a una concentración de 2.0 mg/mL.

7.6.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema

Preparación de la referencia analítica

Se pesaron 2.0 mg de la referencia analítica de DMT por triplicado, se depositaron en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con ACN, de esta solución se tomó una alícuota de 200 μ L en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con fase móvil para obtener tres soluciones stock de la referencia analítica de DMT a una concentración de 0.1 mg/mL.

7.6.1.1. Linealidad

Se construyó una curva de calibración por triplicado realizando diluciones del stock entre 5.0 µg/mL y 100.0 µg/mL. El área de la señal que corresponde a la DMT se graficó con respecto a la concentración. Para calcular la ordenada al origen, la pendiente y el coeficiente de determinación (R^2), se utilizó un análisis de regresión lineal simple. Los puntos intermedios (15.0, 45.0 y 90.0 µg/mL) se leyeron por duplicado. El porcentaje de recobro ($\%_{Rec}$) se determinó utilizando la siguiente expresión:

$$\%_{Rec} = \frac{[ME] - [MNE]}{[T]} \cdot 100$$

Donde:

[ME]= Concentración de la muestra enriquecida con DMT

[MNE]= Concentración de la muestra no enriquecida con DMT

[T]=Concentración teórica

7.6.1.2. Repetibilidad

Se evaluó la precisión calculando el porcentaje de coeficiente de variación (%CV) en cada nivel de concentración de los puntos intermedios de la curva y sus duplicados (n=6), para la exactitud se calculó el porcentaje de desviación absoluta (%DA) para cada lectura de los puntos intermedios de la curva además de sus duplicados.

Precisión

Se calculó el %CV de las concentraciones determinadas para los puntos intermedios y sus duplicados en las tres curvas de calibración (n=6). El %CV se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$\%CV = \frac{\sigma_{x/y}}{\mu} \cdot 100$$

Donde:

$\sigma_{x/y}$ = Desviación estándar de las concentraciones observadas en los puntos intermedios y sus duplicados.

μ = Media de las concentraciones observadas en los puntos intermedios y sus duplicados.

Exactitud

Se obtuvo el %DA de las concentraciones determinadas para los puntos intermedios y sus duplicados en las tres curvas de calibración. El %DA se calculó utilizando la siguiente expresión matemática:

$$\%DA = \frac{[A] - [M]}{[A]} \cdot 100$$

Donde:

[A]=Concentración adicionada

[M]= Concentración medida

7.6.1.3. Reproducibilidad

Se evaluó la precisión de las lecturas en dos días distintos calculando el %CV de las concentraciones determinadas para los puntos intermedios y sus duplicados en las tres curvas de calibración (n=12).

7.6.1.4. Límite de detección y límite de cuantificación

Para evaluar el límite de detección (*LD*) y el límite de cuantificación (*LQ*) se preparó una curva de calibración con puntos entre 5.0 µg/mL y 15.0 µg/mL a partir de una solución stock de la referencia analítica de DMT con una concentración de 100.0 µg/mL y se evaluaron tres réplicas por nivel de concentración. El *LD* y *LQ* se determinaron de acuerdo a las expresiones matemáticas que se indican a continuación:

$$LD = \frac{3.3 \cdot \sigma_{x/y}}{m}$$

$$LQ = \frac{10 \cdot \sigma_{x/y}}{m}$$

Donde:

$\sigma_{x/y}$ = Desviación estándar

m = Pendiente de la curva de calibración

7.7. Determinación de *N,N*-dimetiltriptamina en plasma por HPLC-UV

La referencia analítica de DMT se administró a seis ratas hembra tipo wistar con pesos entre 200-250 g, las cuales se dividieron en tres grupos de análisis. Al primer grupo se le aplicó una dosis de 10.0 mg/kg, el segundo grupo recibió una dosis de

25.0 mg/kg mientras que el tercer grupo se utilizó como control y únicamente se le administró vehículo, compuesto por una mezcla de propilenglicol/etanol/agua (40/20/40). La toma de muestra se realizó por punción cardiaca utilizando EDTA como anticoagulante.

Preparación de la muestra

La sangre se centrifugó a 5 000 rpm durante 5 min. Se mezclaron 500 µL de plasma con 500 µL de ACN frío a -20°C en un tubo para micro centrífuga y se agitaron por 10 s, la mezcla se centrifugó a 14 000 rpm durante 15 min, se separó el sobrenadante y se tomó una alícuota de 500 µL para la determinación de DMT ⁶⁹. Se desarrollaron y optimizaron las condiciones para la cuantificación de DMT en plasma por HPLC-UV. Los cromatogramas fueron procesados con el programa ChemStation, las condiciones seleccionadas para el análisis se enlistan en la tabla VI.

Tabla VI. Condiciones cromatográficas para la determinación de DMT en plasma y tejido cerebral

Equipo		Condiciones	
Cromatógrafo:	Agilent® 1200	Fase móvil:	ACN (A), TFA 0.1 % (B)
Columna:	ZORBAX-SB C18 (100 mm X 4.6 mm, 3µm)	Proporción:	A 21%, B 79% (8 min)
Detector:	UV (λ =275 nm)	Volumen de inyección:	.10 µL
		Flujo:	1.2 mL/min

Se pesaron 2.0 mg de la referencia analítica de DMT, se depositaron en un matraz volumétrico de 2 mL y se agregaron 50 µL de ACN, se llevó a volumen con plasma y se homogenizó por agitación mecánica para obtener una solución stock de la referencia analítica de DMT a una concentración de 1.0 mg/mL.

Para construir la curva de calibración se midieron ocho puntos con concentraciones de la referencia analítica de DMT entre 50.0 $\mu\text{g/mL}$ y 1000.0 $\mu\text{g/mL}$, posteriormente se graficó el área de la señal correspondiente a DMT en relación a la concentración en $\mu\text{g/mL}$ de cada punto.

7.7.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema

Preparación de la referencia

Se pesaron 2.0 mg de la referencia analítica de DMT por triplicado, se depositaron en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con ACN para obtener tres soluciones stock de la referencia analítica de DMT a una concentración de 1.0 mg/mL.

7.7.1.1. Linealidad

Se construyó una curva de calibración por triplicado realizando diluciones del stock entre 50.0 $\mu\text{g/mL}$ y 1000.0 $\mu\text{g/mL}$. El área de la señal que corresponde a la DMT se graficó con respecto a la concentración. Para calcular la ordenada al origen, la pendiente y el R^2 , se utilizó un análisis de regresión lineal simple. Los puntos intermedios (150.0, 450.0 y 900.0 $\mu\text{g/mL}$) se leyeron por duplicado.

7.7.1.2. Repetibilidad y reproducibilidad

Para evaluar la repetibilidad así como la reproducibilidad se calcularon la precisión y exactitud según lo indicado en los incisos 7.6.1.2 y 7.6.1.3.

7.7.1.3. Límite de detección y límite de cuantificación

Para evaluar el LD y el LQ se preparó una curva de calibración con puntos entre 50.0 $\mu\text{g/mL}$ y 150.0 $\mu\text{g/mL}$ a partir de una solución stock de la referencia analítica de DMT

con una concentración de 1000.0 µg/mL, se evaluaron tres réplicas por nivel de concentración.

7.7.2. Evaluación de los parámetros de calidad del método

Preparación del plasma enriquecido con la referencia analítica de DMT

Se pesaron 2.0 mg de la referencia analítica de DMT por triplicado, se depositaron en un matraz volumétrico de 2 mL y se agregaron 50 µL de ACN, se llevó a volumen con plasma y se homogenizó por agitación mecánica para obtener tres soluciones stock de la referencia analítica de DMT a una concentración de 1.0 mg/mL.

Preparación de la referencia analítica

Se tomaron 500 µL del plasma enriquecido con la referencia analítica de DMT (1.0 mg/mL), se añadieron 500 µL de ACN a -20 °C en un tubo para micro centrifuga y se colocaron en un mezclador orbital por 10 s, posteriormente se centrifugaron por 15 min a 14 000 rpm a 4 °C. Se separó el sobrenadante y se tomó una alícuota de 500 µL para el análisis.

7.7.2.1. Linealidad

La curva de calibración para evaluar la linealidad se construyó según lo descrito en el inciso 7.7.1.1.

7.7.2.2. Repetibilidad y reproducibilidad

Para evaluar la repetibilidad así como la reproducibilidad se calcularon la precisión y exactitud según lo indicado en los incisos 7.6.1.2 y 7.6.1.3.

7.7.2.3. Límite de detección y límite de cuantificación

La determinación del *LD* y *LQ* se llevo a cabo según lo indicado en el inciso 7.7.1.3.

7.8. Determinación de *N,N*-dimetiltriptamina en tejido cerebral por HPLC-UV

Preparación de la muestra

Se desarrollaron y optimizaron las condiciones para la determinación de DMT en tejido cerebral por HPLC-UV, las condiciones seleccionadas para el análisis se enlistan en la tabla V. Se realizó la disección de tejido cerebral de las seis ratas administradas con DMT y el grupo control, se homogenizó en baño de ultrasonido en buffer de fosfatos (PBS, pH=6.9) /ACN, agregando 10 μ L por cada mg de tejido ¹⁹⁴, se agitó por 15 s y la mezcla se centrifugó a 14 000 rpm durante 15 min, se separó el sobrenadante y se tomó una alícuota de 500 μ L para la determinación de DMT por HPLC-UV.

Se pesaron 2.0 mg de la referencia analítica de DMT, se depositaron en un matraz volumétrico de 2 mL, se llevó a volumen con ACN, luego se depositaron 20 μ L en un matraz volumétrico de 2 mL, después se aforó con fase móvil, de esta solución se tomó una alícuota de 20 μ L en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con fase móvil para obtener una solución stock a una concentración de 0.1 μ g/mL.

Para construir la curva de calibración se midieron siete puntos con concentraciones de la referencia analítica de DMT entre 5.0 ng/mL y 80.0 ng/mL, posteriormente se graficó el área de la señal correspondiente a DMT en relación con la concentración en ng/mL de cada punto.

7.8.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema

Preparación de la referencia analítica

Se pesaron 2.0 mg de la referencia analítica de DMT, se depositaron en un matraz volumétrico de 2 mL y se llevó a volumen con ACN, se tomaron 20 μ L de esta solución y se aforaron a 2 mL con fase móvil, posteriormente se tomó una alícuota de 20 μ L en un matraz volumétrico de 2 mL para llevarlo a volumen con fase móvil y así obtener una solución stock a una concentración de 0.1 μ g/mL.

7.8.1.1. Linealidad

Se construyó una curva de calibración por triplicado realizando diluciones del stock entre 5.0 ng/mL y 90.0 ng/mL. El área de la señal que corresponde a la DMT se graficó con respecto a la concentración. Para calcular la ordenada al origen, la pendiente y el R^2 , se utilizó un análisis de regresión lineal simple, los puntos intermedios (15.0, 45.0 y 90.0 ng/mL) se leyeron por duplicado.

7.8.1.2. Repetibilidad y reproducibilidad

Para evaluar la repetibilidad así como la reproducibilidad se calcularon la precisión y exactitud según lo indicado en los incisos 7.6.1.2 y 7.6.1.3.

7.8.1.3. Límite de detección y límite de cuantificación

Para evaluar el LD y el LQ se preparó una curva de calibración con puntos entre 5.0 ng/mL y 20.0 ng/mL a partir de una solución stock de la referencia analítica de DMT con una concentración de 100.0 ng/mL, se evaluaron tres réplicas por nivel de concentración.

7.9. Evaluación de la actividad iMAO de la corteza de *M. tenuiflora*

7.9.1. Ensayo *in vivo*

Se utilizaron nueve ratas hembra tipo wistar con pesos entre 200-250 g, las cuales se dividieron en tres grupos de análisis. Al primer grupo se le administró una dosis equivalente a 10.0 mg/kg de DMT del extracto metanólico de *M. tenuiflora* (325.2 mg/kg) y el segundo recibió una dosis equivalente a 25.0 mg/kg de DMT del extracto (813.0 mg/kg), mientras que al tercero únicamente se le administró vehículo compuesto por una mezcla de propilenglicol/etanol/agua (40/20/40).

Se realizó la disección del tejido cerebral tanto de los animales de estudio como del grupo control y se homogenizó por separado en agua desionizada, se agregaron 10 µL por cada mg de tejido, posteriormente se hizo una dilución 1:10 del homogenado en PBS.

Se agregaron 225 µL de cada homogenado en dos tubos de ensayo distintos, a cada tubo se le añadieron 300 µL de una solución 50 mM de dibromhidrato de quinuramina y según el caso 75 µL de una solución de selegilina 4 µM (para evaluar MAO A) o 75 µL de una solución de clorgilina 4 µM (para evaluar MAO B). La mezcla se incubó 30 min a 37°C, posteriormente se agregaron 600 µL de ácido tricloroacético al 10 % y se centrifugó a 15 000 rpm por 15 min ¹⁹⁴.

Por último, se tomaron 1200 µL del sobrenadante y se mezclaron con un volumen igual de hidróxido de sodio. La mezcla se analizó por FL a longitudes de onda de emisión/excitación de 315/380 nm. La actividad se expresa como nMol de 4-hidroxiquinolina por miligramo de proteína, por horas de incubación (nmol/mg prot/h). Para la curva de calibración se utilizó 4-hidroxiquinolina en concentraciones de 100 nM a 3200 nM ¹⁹⁴.

Para la determinación de proteínas totales se preparó una dilución del homogenado de cada muestra en agua desionizada 1:10, luego se añadieron 60 µL de la muestra diluida en tubos con solución reactivo la cual contenía 1.0 mL de solución de

KNaC₄H₄O₆·4H₂O al 2% y 1.0 mL de CuSO₄ al 1% en 98 mL de Na₂CO₃/NaOH 0.1 N, para el blanco se agregó el mismo volumen de agua desionizada ¹⁹⁵.

Posteriormente, se homogenizó en un agitador orbital durante 10 s se incubó la mezcla por 30 min a temperatura ambiente, se añadieron 30 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu al 50%, por último se incubó la mezcla por 30 min a temperatura ambiente y se leyó cada muestra a 550 nm en un espectrofotómetro UV. Para la curva de calibración se utilizó un stock de albúmina sérica de bovino en una concentración de 12.5 mg/mL, se prepararon cinco puntos de entre 0.05 mg/mL y 0.60 mg/mL ¹⁹⁵.

7.9.2. Ensayo *in vitro*

Se agregaron 300 µL del homogenado del grupo control en seis tubos de ensayo diferentes, 380 µL de una solución 50 mM de dibromhidrato de quinuramina, se agregaron según el caso 100 µL de una solución de selegilina 2 µM (para evaluar MAO A) o 100 µL de una solución de clorgilina 2 µM (para evaluar MAO B). Posteriormente, se agregaron concentraciones equivalentes a 100.0 nM, 1.0 µM y 10.0 µM de DMT del extracto metanólico de la corteza de *M. tenuiflora* a cada tubo ¹⁹⁴.

La mezcla se incubó 30 min a 37°C, posteriormente se agregaron 800 µL de ácido tricloroacético al 10 % y se centrifugó a 15 000 rpm por 15 min. Por último, se tomaron 900 µL del sobrenadante y se mezclaron con un volumen igual de hidróxido de sodio. La mezcla se analizó por FL a longitudes de onda de emisión/excitación de 315/380 nm. La actividad se expresa como nMol de 4-hidroquinolina por miligramo de proteína, por horas de incubación (nmol/mg proteína/h) ¹⁹⁴.

La determinación de proteínas totales se realizó del mismo modo que en el ensayo *in vivo*. En la figura 6 se esquematizan los pasos más relevantes del desarrollo experimental.

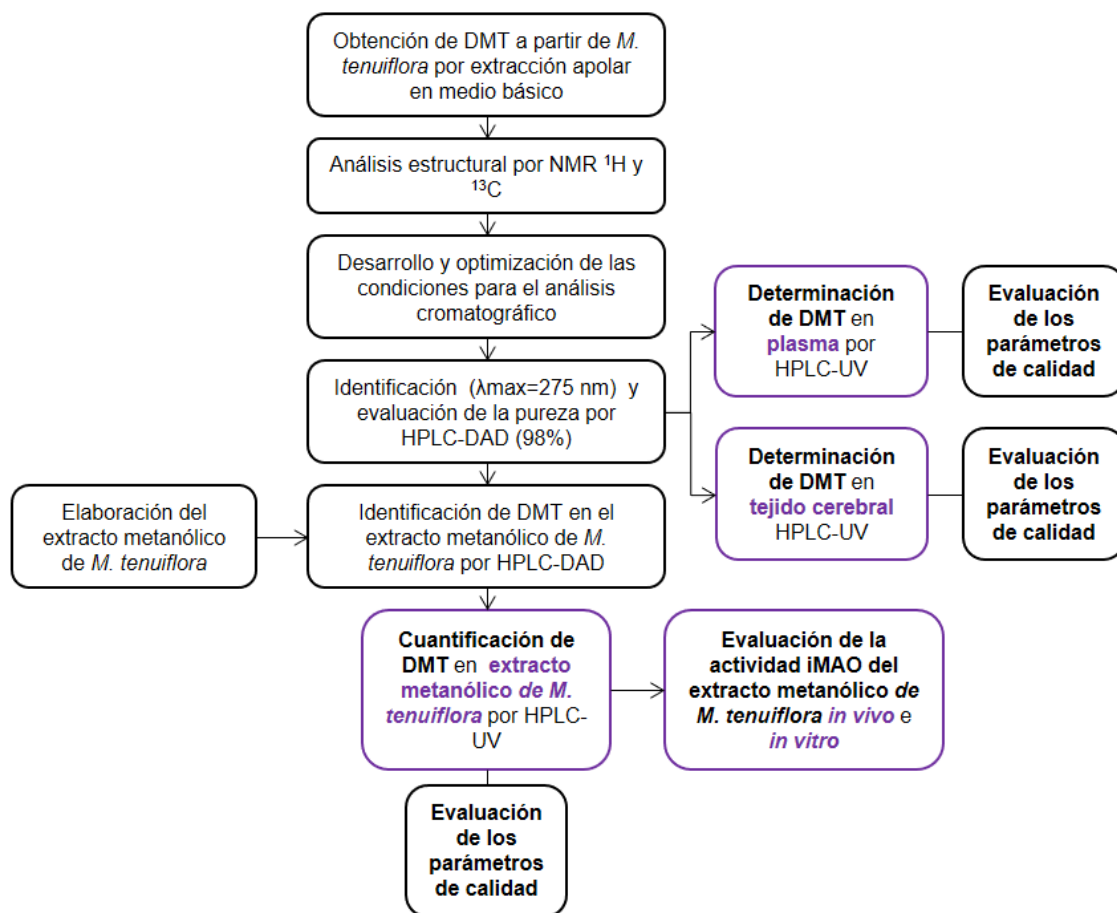


Figura 6. Desarrollo experimental

8. Resultados

8.1. Obtención de la referencia analítica de *N,N*-dimetiltriptamina

Se obtuvieron 498.0 mg de un sólido cristalino de color amarillento con punto de fusión de 55-56°C, el porcentaje de rendimiento de la extracción de DMT fue de 0.09%. En el análisis por TLC se observó una sola banda con un factor de retención (R_f) de 0.49, el cual coincide con el R_f reportado para DMT en el mismo sistema de elución ¹⁹⁰.

La banda observada ($R_f=0.49$) se tornó de color naranja intenso al ser revelada con reactivo de Dragendorff, lo cual indica la presencia de una amina terciaria en la estructura del compuesto obtenido ¹⁹¹. Se confirmó la presencia de un anillo de indol en la estructura ya que la banda se tornó color azul rey en la cromatoplaca al ser revelada con reactivo de Erlich's ($R_f= 0.49$) ¹⁹², en la figura 7 se muestran os resultados.



Figura 7. Análisis por TLC de la DMT obtenida de la corteza de *M. tenuiflora*: revelada con reactivo de Dragendorff (a) y reactivo de Erlich's (b)

8.2. Identificación de *N,N*-dimetiltriptamina por NMR ¹H y ¹³C

Los desplazamientos químicos y la forma de las señales observadas coinciden notablemente con las reportadas para una referencia analítica de DMT aislada de la corteza de *M. tenuiflora* ⁶⁶, también se asemejan a las reportadas para un estándar de referencia sintético de DMT ¹⁶⁴. Los espectros NMR ¹H y ¹³C se muestran en las figuras 8 y 9, respectivamente.

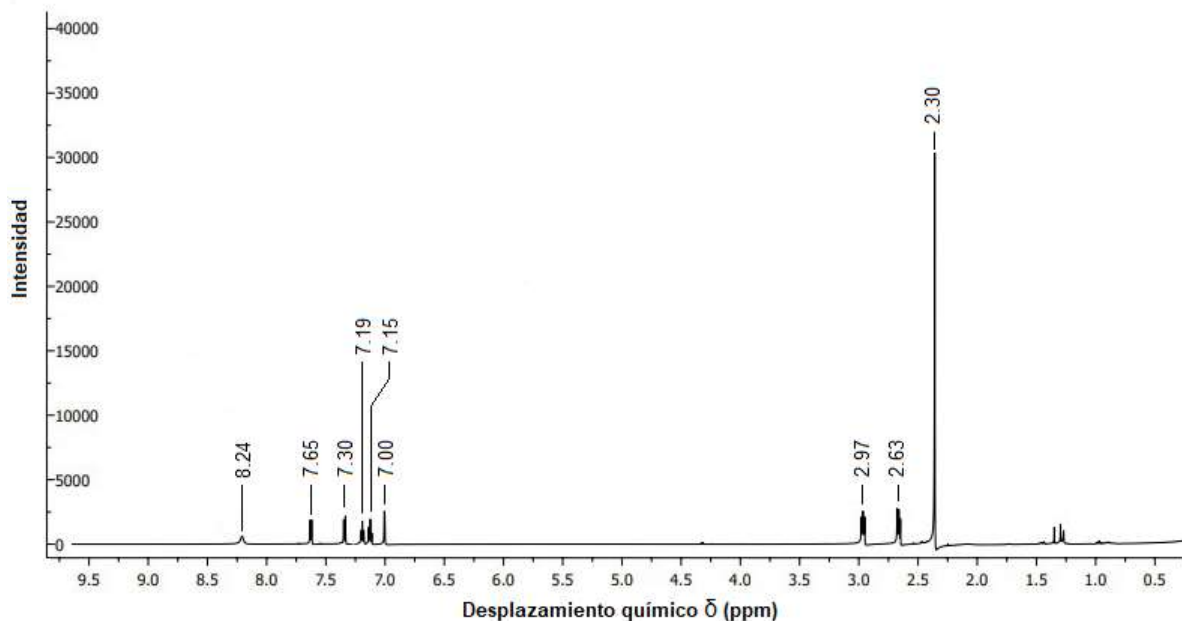
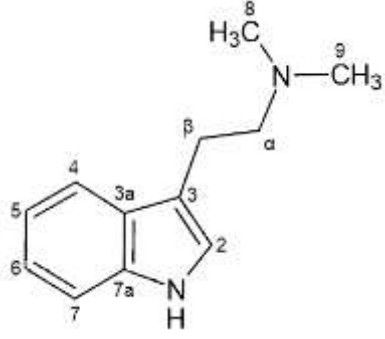


Figura 8. Espectro NMR ¹H de DMT aislada de *M. tenuiflora*

En la tabla VII se observa una comparación de los desplazamientos químicos observados en el espectro NMR ¹H obtenido con el reportado para un estándar analítico de DMT aislado de la corteza de *M. tenuiflora*, mientras que la comparación de los datos observados en el espectro NMR ¹³C obtenido con el reportado para el mismo estándar analítico de DMT se presenta en la tabla VIII.

Tabla VII. Comparación de las señales observadas en el espectro ^1H NMR de DMT

Átomo	Referencia ⁽⁶⁶⁾ (ppm)	Observada (ppm)	Asignación gráfica
H2	6.98 (s) 1H	7.00 (s) 1H	
H4	7.63 (d) 1H	7.65 (d) 1H	
H5	7.18 (m) 1H	7.19 (m) 1H	
H6	7.14 (m) 1H	7.15 (m) 1H	
H7	7.32 (m) 1H	7.30 (m) 1H	
H _β	2.69 (t) 2H	2.63 (t) 2H	
H _α	3.00 (t) 2H	2.97 (t) 2H	
H ₈ , H ₉	2.39 (s) 6H	2.30 (s) 6H	
NH	8.49 (s) 1H	8.24 (s) 1H	

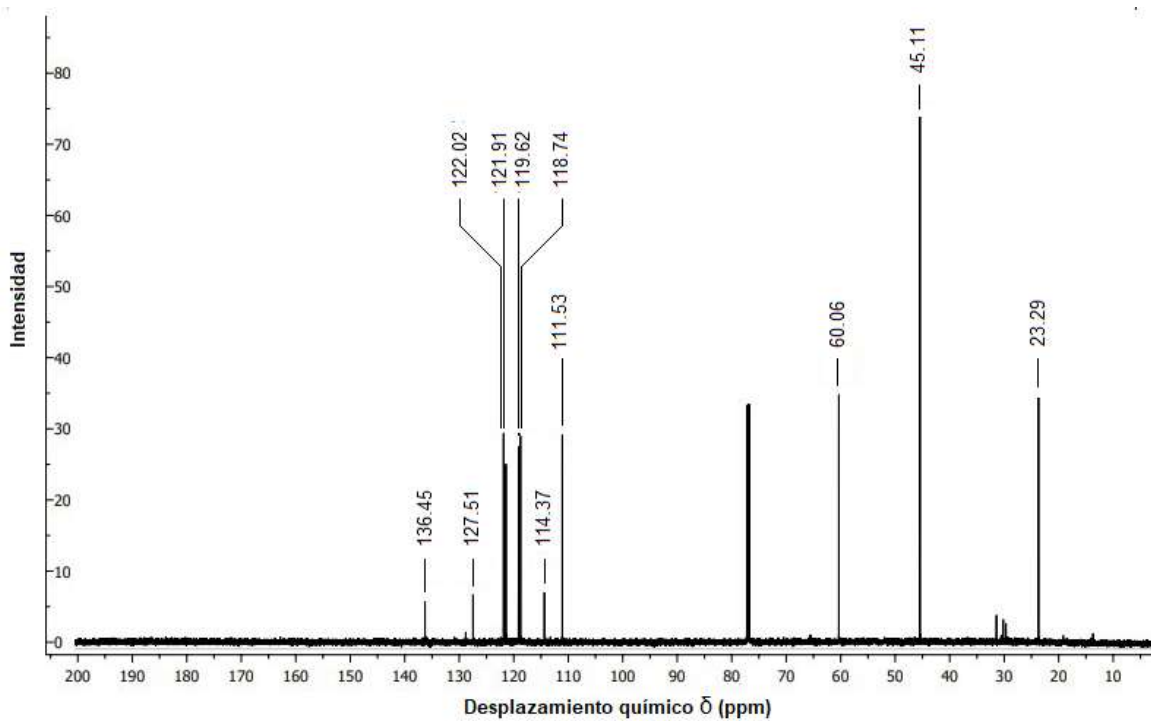
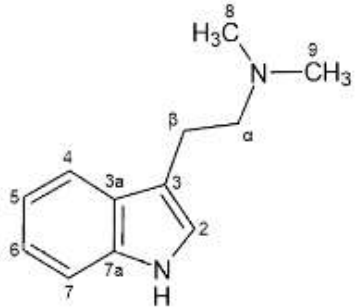


Figura 9. Espectro NMR ^{13}C de DMT aislada de *M. tenuiflora*

Tabla VIII. Comparación de las señales observadas en el espectro ^{13}C NMR de DMT

Átomo	Referencia ⁽⁶⁶⁾ (ppm)	Observada (ppm)	Asignación gráfica
C ₂	122.01	122.02	
C ₃	114.37	114.25	
C _{3a}	127.67	127.51	
C ₄	118.94	118.74	
C ₅	119.28	119.62	
C ₆	121.79	121.91	
C ₇	111.36	111.53	
C _{7a}	136.55	136.45	
C _β	23.86	23.29	
C _α	60.53	60.06	
C ₈ , C ₉	45.61	45.11	

8.3. Determinación de la pureza de la referencia analítica de *N,N*-dimetiltryptamina

En el cromatograma de la DMT aislada de *M. tenuiflora* (Fig. 10) se observa una señal correspondiente a DMT con un tiempo de retención (t_R) de 7.27 min y un %Área= 98.054, el máximo de absorción (λ_{max}) reportado para DMT es de 275 nm ⁶⁶. Por otra parte, en el espectro de UV en 3D (Fig.11) se pueden observar dos picos de absorción uno en 275 nm y otro en 218 nm.

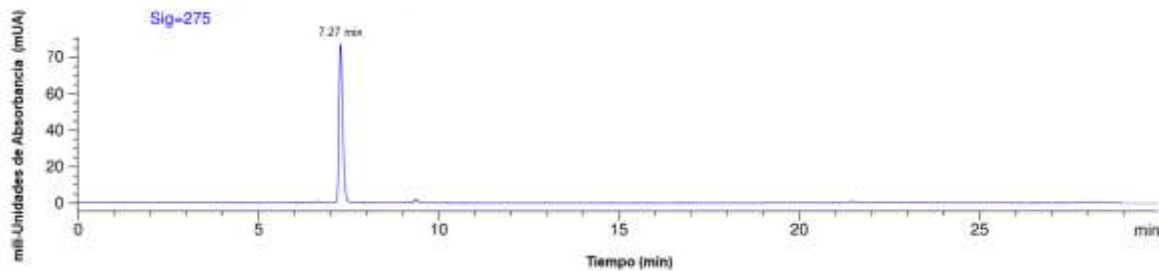


Figura 10. Cromatograma de la referencia analítica de DMT obtenida a partir de *M. tenuiflora*

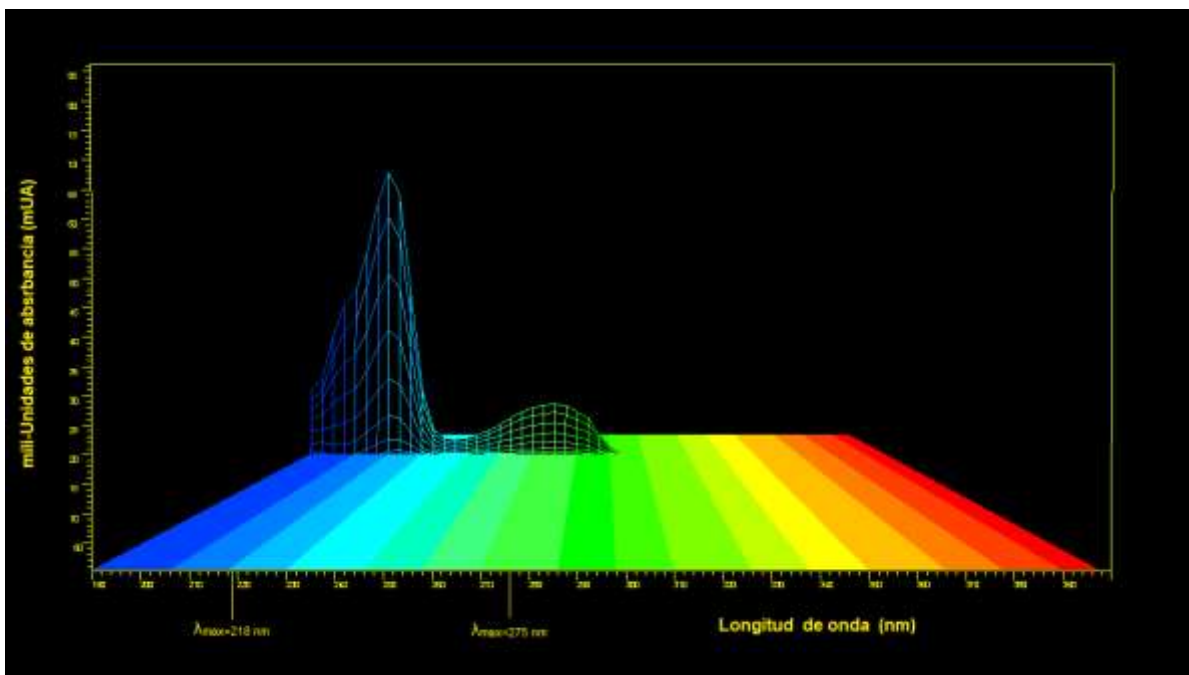


Figura 11. Espectro UV en 3D de la referencia analítica de DMT obtenida a partir de *M. tenuiflora*

8.4. Identificación de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora*

Identificación de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora* por TLC

Se obtuvieron 12.8 g del extracto metanólico de *M. tenuiflora*, en la cromatoplaqa se observaron dos bandas, una primaria con un $R_f = 0.35$ y otra secundaria con $R_f = 0.73$. La banda primaria resultó positiva a la reacción de Dragendorff y Erlich's para la

identificación de estructuras indólicas ^{192,193}, no se pudieron identificar alcaloides en la banda secundaria.

Identificación de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora* por HPLC-DAD

En el cromatograma de la referencia analítica de DMT, ilustrado en la figura 11, se observa una señal que coincide con la observada en el cromatograma del extracto metanólico de *M. tenuiflora* (Fig. 12) con un $t_R = 7.34$ y área de 592.7. En el cromatograma en 3D (190-400nm) de la misma (fig. 13) se logran distinguir dos máximos de absorción UV, el primero en 218 nm y segundo en 275 nm, que coincide con la referencia, además confirma la identidad de la DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora*.

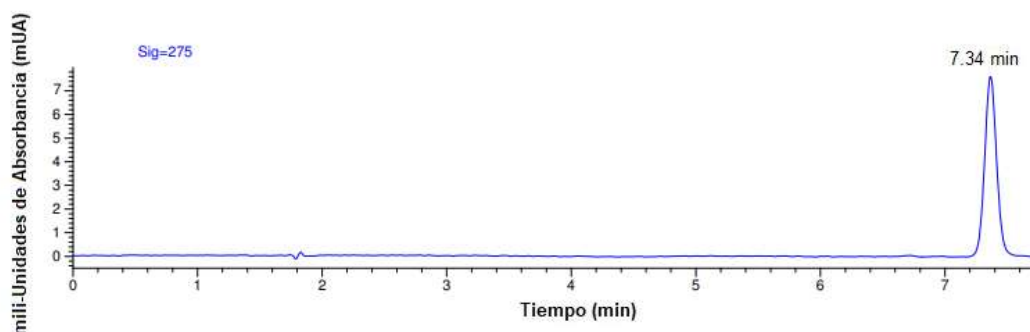


Figura 11. Cromatograma de la referencia analítica de DMT (98%) en condiciones cromatograficas para la cuantificación de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora* por HPLC-DAD

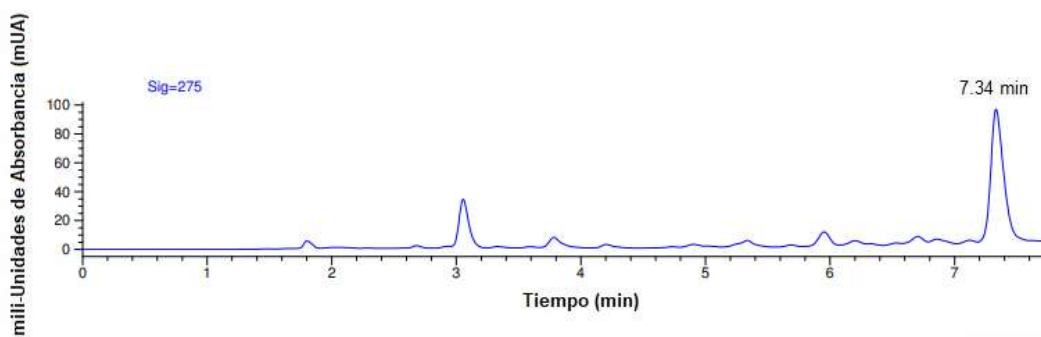


Figura 12. Cromatograma del extracto metanólico de *M. tenuiflora*

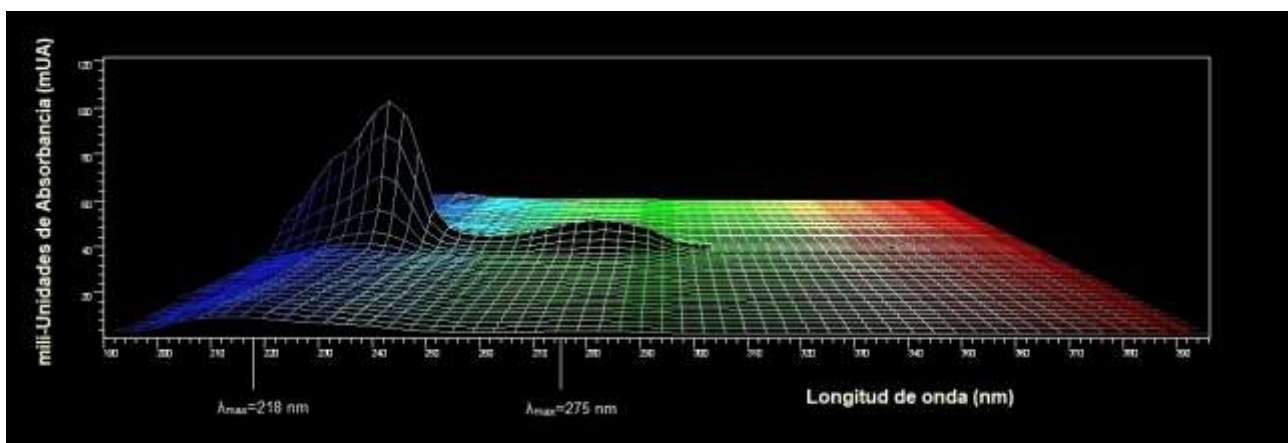
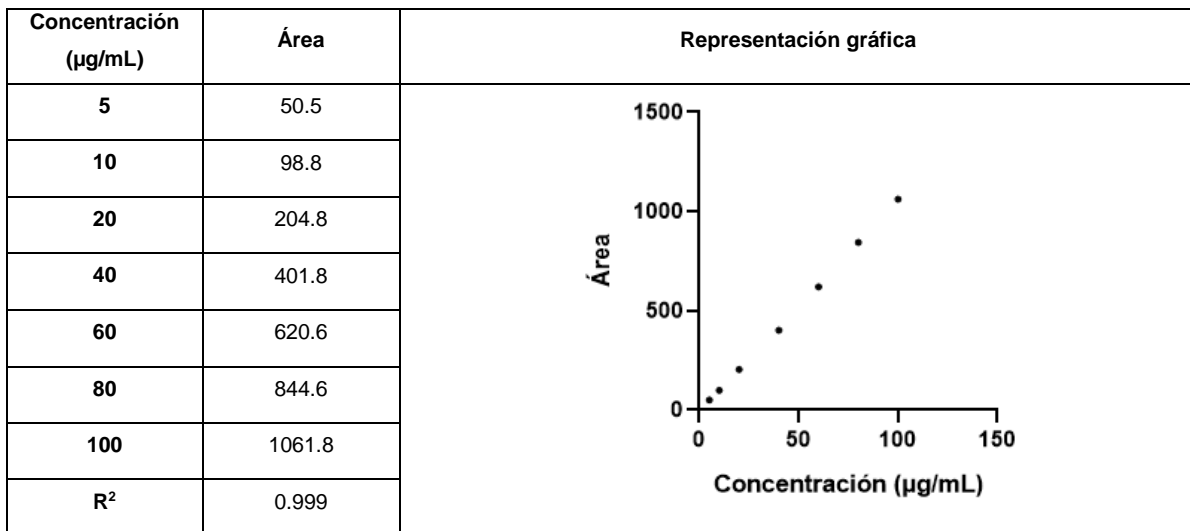


Figura 13. Espectro UV en 3D de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora*

8.5. Cuantificación de *N,N*-dimetilriptamina en el extracto metanólico de *M. tenuiflora* por HPLC-UV

El área de la señal obtenida del análisis por HPLC fue de 592.5, la curva de calibración utilizada para cuantificar DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora* se observa en la tabla IX.

Tabla IX. Curva de calibración para la cuantificación de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora*



Considerando la ecuación $y = 10.649x - 10.233$ se calculó el valor de x que corresponde a la concentración de DMT en µg/mL, en la tabla X se pueden observar los valores obtenidos, tomando en cuenta que $y = 592.6$ la concentración de DMT es de 56.60 µg/mL, lo que significa que hay 30.32 mg de DMT por cada gramo de extracto metanólico de la corteza de *M. tenuiflora*. Con esta información se determinó que hay 36.39 mg de DMT por cada gramo de corteza. En la tabla XI se observa la relación entre gramos de material vegetal, gramos de extracto y miligramos de DMT.

Tabla X. Concentración de DMT en el extracto metanólico de *M. tenuiflora*

Extracto metanólico de <i>M. tenuiflora</i>		
Concentración (mg/mL)	Área promedio	Concentración DMT (µg/mL)
2.0	592.6	56.60

Tabla XI. Cantidad de DMT en la corteza de *M. tenuiflora*

Material vegetal (g)	Extracto MeOH (g)	DMT (mg/g de material vegetal)
100.0	12.85	36.39

8.5.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema

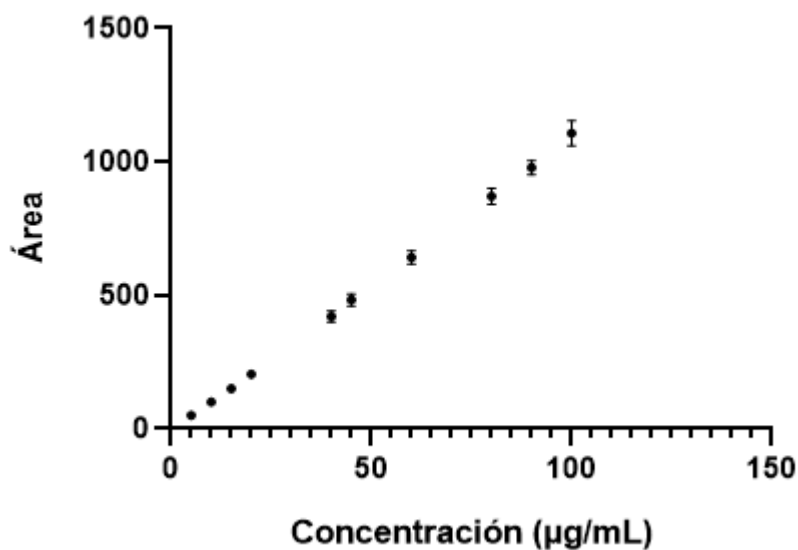
8.5.1.1. Linealidad

En la tabla XII se observan los resultados de la evaluación de la linealidad del sistema para cuantificar DMT en el extracto metanólico de la corteza de *M. tenuiflora*.

Tabla XII. Curva de calibración por triplicado

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Área			Promedio % _{Rec}
	1	2	3	
5	50.5	50.1	50.7	116.56
10	98.8	98.3	103.6	103.16
15	147.9	148.7	156.2	99.19
20	204.8	205.3	204.8	98.73
40	401.8	418.1	442.9	98.04
45	465.6	476.1	509.1	99.69
60	620.6	636.0	668.9	98.54
80	844.6	864.2	904.7	99.70
90	964.8	961.4	1009.5	99.40
100	1061.8	1103.9	1154.0	101.00

Representación gráfica



$$R^2=0.997$$

8.5.1.2. Repetibilidad

Los valores obtenidos en la evaluación de la repetibilidad se observan en las tablas XIII y XIV.

Precisión

Tabla XIII. %CV de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados (n=6)

Concentración (µg/mL)	%CV
15	2.72
45	3.10
90	2.03

Exactitud

Tabla XIV. %DA de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de la curva de calibración y sus duplicados (n=6)

Concentración (µg/mL)	Promedio %DA
15	0.09
45	0.51
90	0.55

8.5.1.3. Reproducibilidad

En las tablas XV y XVI se organizan los resultados derivados de la evaluación de la reproducibilidad.

Tabla XV. %CV de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados inter día (n=12)

Concentración (µg/mL)	%CV
15	2.70
45	3.06
90	2.59

Tabla XVI. %DA de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados inter día (n=12)

Concentración (µg/mL)	Promedio %DA
15	0.09
45	0.45
90	0.10

8.5.1.4. Límite de detección y límite de cuantificación

Los valores determinados para el *LD* y *LQ* se presentan en la tabla XVII.

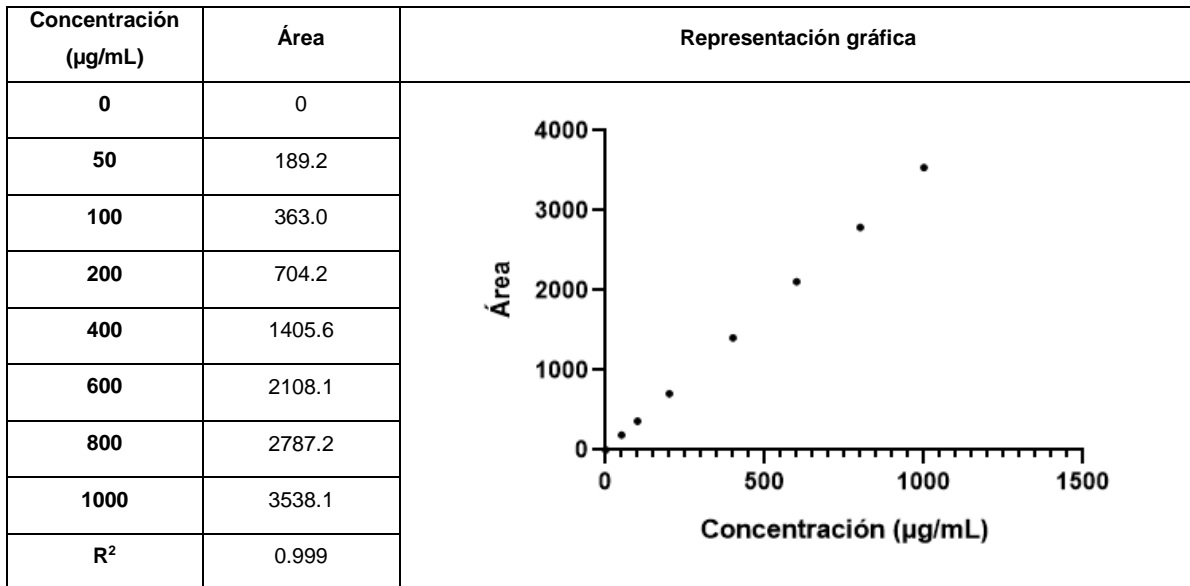
Tabla XVII. Límite de detección y cuantificación

Parámetro	µg/mL
LD	0.063
LQ	0.193

8.6. Determinación de *N,N*-dimetilriptamina en plasma por HPLC-UV

La curva de calibración utilizada para realizar la determinación de DMT en el plasma se observa en la tabla XVIII.

Tabla XVIII. Curva de calibración para la determinación de DMT en plasma



Considerando la ecuación $y = 3.5103x + 4.7172$, y tomando en cuenta que y es el área de la señal correspondiente a DMT se determinó el valor de x que representa la concentración de DMT en µg/mL. Los resultados obtenidos se enlistan en la tabla XIX. Para saber si había relación entre la dosis administrada y la cantidad medida se calculó el coeficiente de correlación de Pearson que fue de 0.96, por lo que asumimos que hay correlación positiva entre las variables.

Tabla XIX. Determinación de DMT en plasma

Grupo	µg/mL
Control	4.8
	2.7
	9.0
DMT 10 mg/kg	13.1
	26.0
	14.2
DMT 25 mg/kg	100.9
	58.6
	74.4
r de Pearson	0.96

8.6.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema

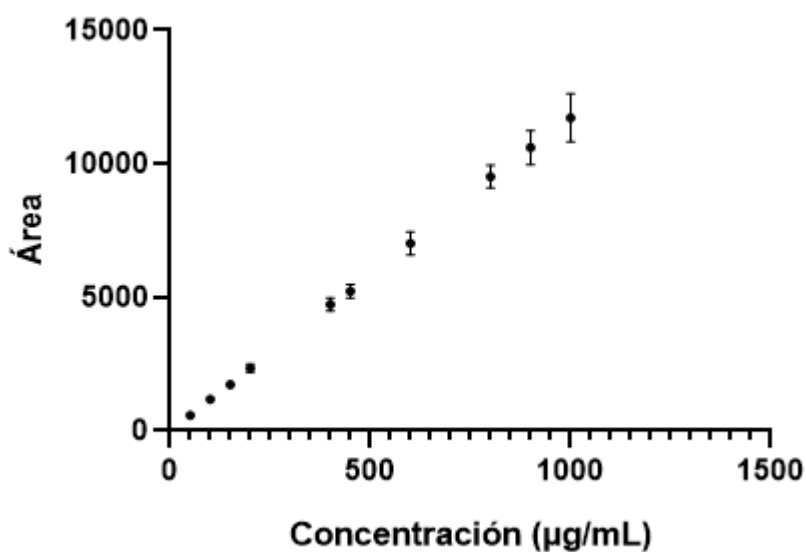
8.6.1.1. Linealidad

En la tabla XX se observan los resultados de la evaluación de la linealidad del sistema para la determinación de DMT en plasma.

Tabla XX. Curva de calibración por triplicado

Concentración (µg/mL)	Área			Promedio % _{Rec}
	1	2	3	
50	601.5	553.0	606.3	99.22
100	1226.9	1146.7	1176.5	100.29
150	1804.6	1672.9	1702.9	95.94
200	2514.2	2240.8	2281.7	99.51
400	4993.5	4487.2	4704.8	100.37
450	5498.6	4982.1	5200.7	99.26
600	7497.2	6616.0	6929.0	99.28
800	9959.2	9112.7	9484.9	101.06
900	11218.6	9950.2	10650.2	96.95
1000	12510.4	10746.3	11897.3	99.53

Representación gráfica



$R^2=0.992$

8.6.1.2. Repetibilidad

Los valores obtenidos en la evaluación de la repetibilidad se observan en las tablas XXI y XXII.

Precisión

Tabla XXI. %CV de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados (n=6)

Concentración (µg/mL)	%CV
150	3.18
450	4.57
900	4.32

Exactitud

Tabla XXII. %DA de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de la curva de calibración y sus duplicados (n=6)

Concentración (µg/mL)	Promedio %DA
15	3.04
45	0.60
90	2.20

8.6.1.3. Reproducibilidad

En las tablas XXIII y XXIV se organizan los resultados derivados de la evaluación de la reproducibilidad.

Tabla XXIII. %CV de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados inter día (n=12)

Concentración (µg/mL)	%CV
150	5.03
450	4.57
900	4.28

Tabla XXIV. %DA de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados inter día (n=12)

Concentración (µg/mL)	Promedio %DA
15	0.08
45	0.43
90	0.31

8.6.1.4. Límite de detección y límite de cuantificación

Los valores determinados para el *LD* y *LQ* se presentan en la tabla XXV.

Tabla XXV. Límite de detección y cuantificación

Parámetro	µg/mL
LD	0.24
LQ	0.73

8.6.2. Evaluación de los parámetros de calidad del método

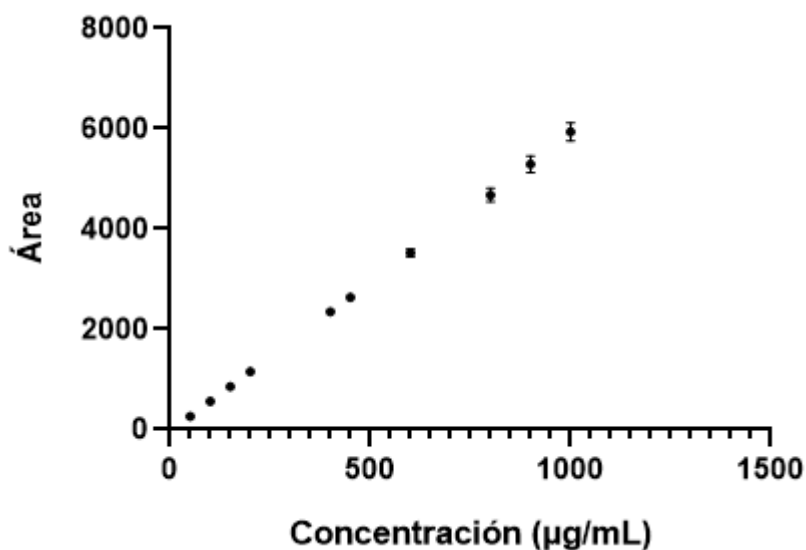
8.6.2.1. Linealidad

En la tabla XXVI se observan los resultados de la evaluación de la linealidad del método para la determinación de DMT en plasma.

Tabla XXVI. Curva de calibración por triplicado

Concentración (µg/mL)	Área			Promedio % _{Rec}
	1	2	3	
50	255.5	265.4	267.6	99.65
100	553.3	568.1	576.7	100.90
150	826.9	861.4	882.3	99.93
200	1118.4	1167.7	1190.2	100.38
400	2277.4	2360.9	2402.2	100.22
450	2558.4	2659.7	2686.1	99.86
600	3436.7	3527.2	3602.4	99.81
800	4532.9	4708.0	4789.0	99.17
900	5102.5	5345.9	5421.1	99.63
1000	5727.2	6026.5	6052.3	100.54

Representación gráfica



8.6.2.2. Repetibilidad

En las tablas XXVII y XXVIII se organizan los resultados derivados de la evaluación de la repetibilidad.

Precisión

Tabla XXVII. %CV de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados (n=6)

Concentración (µg/mL)	%CV
150	2.30
450	2.42
900	2.24

Exactitud

Tabla XXVIII. %DA de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de la curva de calibración y sus duplicados

Concentración (µg/mL)	Promedio %DA
15	0.20
45	0.03
90	0.37

8.6.2.3. Reproducibilidad

En las tablas XXIX y XXX se organizan los resultados derivados de la evaluación de la reproducibilidad.

Tabla XXIX. %CV de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados inter día (n=12)

Concentración (µg/mL)	%CV
150	2.05
450	2.59
900	3.01

Tabla XXX. %DA de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados inter día

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Promedio %DA
15	0.29
45	0.05
90	0.53

8.6.2.4. Límite de detección y límite de cuantificación

Los valores determinados para el *LD* y *LQ* se presentan en la tabla XXXI.

Tabla XXXI. Límite de detección y cuantificación

Parámetro	$\mu\text{g/mL}$
LD	0.950
LQ	2.878

8.7. Determinación de *N,N*-dimetiltriptamina en tejido cerebral por HPLC-UV

La curva de calibración utilizada para realizar la determinación de DMT en tejido cerebral se observa en la tabla XXXII.

Tabla XXXII. Curva de calibración para la determinación de DMT en tejido cerebral

Concentración (ng/mL)	Área	Representación gráfica
0	0	
5	189.2	
10	363.0	
20	704.2	
40	1405.6	
60	2108.0	
80	2787.0	
R ²	0.999	

Considerando la ecuación $y = 1.7782x + 0.4556$ y tomando en cuenta que y es el área de la señal correspondiente a DMT se determinó el valor de x que representa la concentración de DMT en ng/mL. Los resultados obtenidos se enlistan en la tabla XXXIII. Para saber si había relación entre la dosis administrada y la cantidad medida se calculó el coeficiente de correlación de Pearson que fue de 0.99, por lo que asumimos que hay correlación positiva entre las variables.

Tabla XXXIII. Determinación de DMT en tejido cerebral

Grupo	ng/mL
Control	7.3
	9.1
	6.0
DMT 10 mg/kg	17.7
	15.4
	26.6
DMT 25 mg/kg	29.9
	33.8
	41.6
r de Pearson	0.99

8.7.1. Evaluación de los parámetros de calidad del sistema

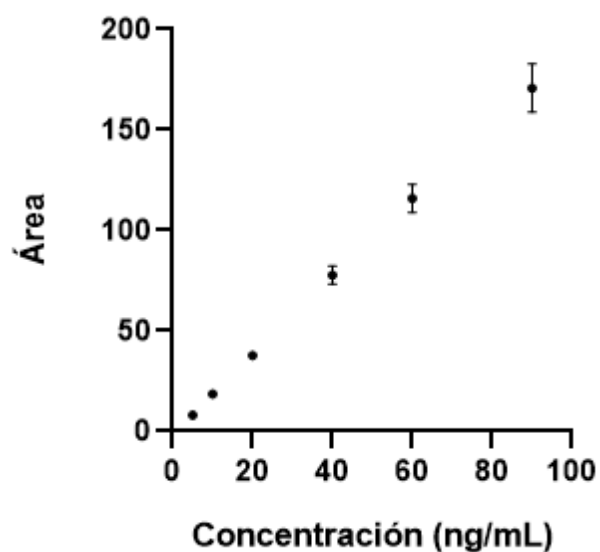
8.7.1.1. Linealidad

En la tabla XXXIV se observan los resultados de la evaluación de la linealidad del sistema para la determinación de DMT en tejido cerebral.

Tabla XXXIV. Curva de calibración por triplicado

Concentración (ng/mL)	Área			Promedio % _{Rec}
	1	2	3	
5	8.0	8.1	8.0	88.60
10	17.5	19.4	18.8	99.22
20	35.6	39.1	38.7	99.75
40	72.4	79.8	80.9	101.89
60	108.8	116.1	122.8	101.12
90	159.4	169.6	183.2	99.18

Representación gráfica



8.7.1.2. Repetibilidad

En las tablas XXXV y XXXVI se encuentran los resultados derivados de la evaluación de la repetibilidad.

Precisión

Tabla XXXV. %CV de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados (n=6)

Concentración (ng/mL)	%CV
15	1.97
45	2.38
80	2.14

Exactitud

Tabla XXXVI. %DA de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de la curva de calibración y sus duplicados

Concentración (ng/mL)	Promedio %DA
15	0.39
45	1.82
90	1.43

8.7.1.3. Reproducibilidad

En las tablas XXXVII y XXXVIII se organizan los resultados derivados de la evaluación de la reproducibilidad.

Tabla XXXVII. %CV de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados inter día (n=12)

Concentración (ng/mL)	%CV
15	1.82
45	1.76
80	1.03

Tabla XXXVIII. %DA de las concentraciones calculadas para los puntos intermedios de las curvas de calibración y sus duplicados inter día

Concentración (ng/mL)	Promedio %DA
15	0.67
45	1.83
90	2.44

8.7.1.4. Límite de detección y límite de cuantificación

Los valores determinados para el *LD* y *LQ* se presentan en la tabla XXXIX.

Tabla XXXIX. Límite de detección y cuantificación

Parámetro	ng/mL
LD	0.365
LQ	1.106

8.8. Evaluación de la actividad iMAO de la corteza de *M. tenuiflora*

8.8.1. Ensayo *in vivo*

Los resultados obtenidos del ensayo *in vivo* para evaluar la actividad iMAO de la corteza se muestran en la tabla XL.

Tabla XL. Evaluación de actividad MAO MAO A y MAO B *in vivo*

Grupo	MAO A (nmol/mg proteína)	MAO B (nmol/mg proteína)
Control	0.36	1.40
	2.56	2.33
	0.67	0.70
10 mg/kg	1.41	2.35
	1.82	1.91
	1.76	1.18
25 mg/kg	1.84	0.95
	2.15	2.03
	1.34	1.05
Valor de P (Estadístico de Kruskal-Wallis $\alpha=0.05$)	0.72	0.62

Para el análisis de los resultados se aplicó una prueba estadística no paramétrica, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis teniendo como hipótesis nula que todas las medianas son iguales, se calculó el valor de P ($\alpha=0.05$) que fue de 0.721 para MAO A y 0.628 para MAO B, en ambos casos $P>\alpha$ entonces no hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula, lo que significa que la dosis de extracto administrada no influyó en la actividad MAO A ni MAO B. Los resultados obtenidos se ilustran en la figura 14.

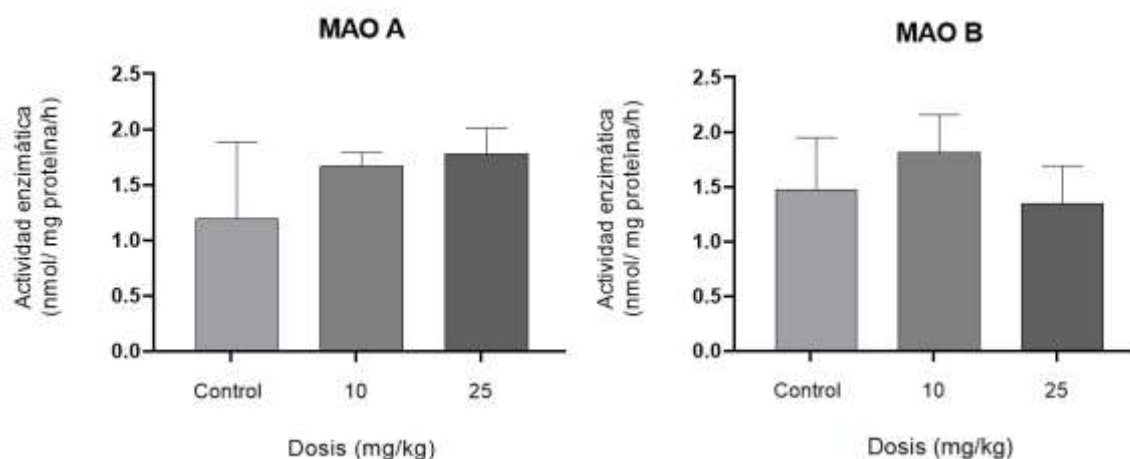


Figura 14. Evaluación de actividad MAO A y MAO B *in vivo*

8.8.2. Ensayo *in vitro*

Los resultados obtenidos del ensayo *in vitro* para evaluar la actividad iMAO de la corteza se muestran en la tabla XLI.

Tabla XLI. Evaluación de actividad MAO A y MAO B *in vitro*

Concentración	MAO A	MAO B
100 nM	0.273	0.132
1 μ M	0.288	0.120
10 μ M	0.279	0.139
r de Pearson	0.030	0.060

Para saber si había alguna relación entre la concentración del extracto y la actividad MAO se calculó el coeficiente de correlación de Pearson que fue de 0.03 para MAO A y 0.06 para MAO B por lo que asumimos que no hay correlación de ningún tipo entre las variables, lo que significa que la concentración de extracto metanólico de la corteza de *M. tenuiflora* no influyó en la actividad MAO A ni MAO B. Los resultados se grafican en la figura 15.

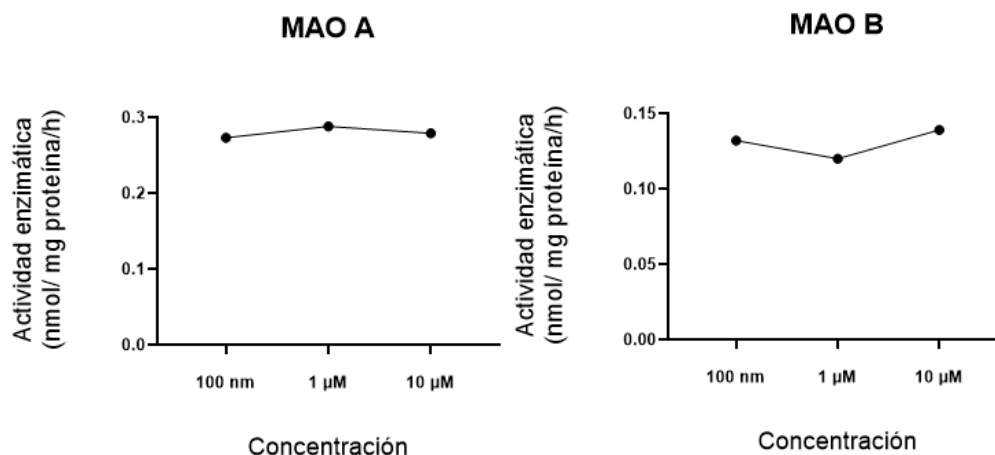


Figura 15. Evaluación de actividad MAO A y MAO B *in vivo*

9. Discusión

El rendimiento de la extracción de DMT fue de 0.09%, este valor es menor que el reportado en la literatura que es de 0.30% ⁶⁶, esta variación se atribuye principalmente al origen poblacional y estado de conservación de la corteza empleada, para este trabajo se utilizaron muestras de la corteza adquiridas comercialmente en un mercado popular, mientras que las investigaciones anteriores han usado muestras tomadas de poblaciones silvestres.

El punto de fusión de la DMT obtenida fue de 55-56°C y concuerda con el esperado para un estándar analítico de DMT obtenido de la corteza de *M. tenuiflora* ⁶². En el análisis por TLC se observó una sola banda con $R_f=0.49$, que coincide con el R_f reportado para un estándar de referencia sintético de DMT en el mismo sistema ¹⁹⁰, adicionalmente se realizó la identificación preliminar de DMT empleado la reacción de Dragendorff y de Erlich's ¹⁹¹⁻¹⁹³.

Las señales observadas en los espectros NMR ¹H y ¹³C (Fig. 8 y 9) se compararon con las señales reportadas para un estándar de dimetiltriptamina (>95%) obtenido de la corteza de *M. tenuiflora* ⁶⁶, en los dos espectros, las señales coincidieron notablemente y de esa forma se pudo confirmar la identidad estructural de la

referencia analítica de DMT. Las señales también se asemejan a las reportadas para un estándar de referencia sintético ¹⁶⁴.

Se registró un λ_{\max} =275 nm en el análisis por HPLC-DAD de la referencia analítica de DMT (Fig. 11), este valor se corresponde con el reportado en la literatura para realizar la identificación de la molécula ⁶⁶, en el mismo análisis se evaluó la pureza (98.05 %), que fue suficiente para emplearla como referencia analítica en la identificación y cuantificación de DMT en distintas matrices biológicas ^{61,66,196}.

Llama poderosamente la atención una señal (λ_{\max} =218 nm) observada en el espectro 3D, de la referencia analítica (Fig. 11), sin embargo, se descartó la posibilidad de que se trate de una impureza o sustancia relacionada con el proceso de extracción debido a que se observa también en el espectro 3D de la DMT identificada en el extracto (Fig. 13).

Los parámetros de calidad del sistema empleado para cuantificar DMT en la corteza de *M. tenuiflora* fueron evaluados con resultados satisfactorios. Se cuantificaron 36.39 mg por gramo de corteza, los datos observados difieren a los reportados en trabajos anteriores que se encuentran entre 1.35 mg/g y 9.35 mg/g ^{61,65}, esta diferencia puede ser atribuida tanto al origen poblacional como a la preparación de la corteza, hasta ahora no se había cuantificado DMT en el extracto metanólico.

El origen de la corteza también puede jugar un papel relevante en la cantidad de DMT medida, debemos tomar en cuenta que solamente se ha cuantificado en la corteza de árboles silvestres ^{61,65}, pero hasta ahora no se había hecho en muestras comerciales de la corteza de *M. tenuiflora*, dichas muestras provienen principalmente de poblaciones en el estado de Oaxaca y Chiapas al sureste de México ¹¹⁰, los nutrientes, el clima y otros factores geográficos podrían afectar notablemente la producción de metabolitos secundarios en organismos vegetales ²⁹.

Tanto los parámetros de calidad del método y sistema empleados para la determinación de DMT en plasma, como los parámetros de calidad del sistema para

la determinación de DMT en tejido cerebral fueron evaluados con resultados satisfactorios. Las concentraciones determinadas corresponden proporcionalmente con las cantidades de molécula administradas.

Se cuantificaron hasta 9.02 µg/mL DMT en las muestras de plasma y 9.19 ng/mL en las de tejido cerebral del grupo blanco (Tabla XIX y XXXIII), esto se debe a que la molécula de DMT se produce de manera endógena en todos los mamíferos y se puede llegar a cuantificar en pequeñas cantidades ^{58,72}, sin embargo, este hecho no interfirió con el alcance de ninguno los objetivos que se plantearon para este trabajo de investigación.

Algunos autores han propuesto que es posible que en el extracto de *M. tenuiflora* existan moléculas capaces de inhibir la actividad de la MAO A ^{64,81,82}, sin embargo, el ensayo *in vivo* con el tejido cerebral de ratas tratadas con diferentes dosis del extracto metanólico de *M. tenuiflora* reveló que la actividad de MAO no disminuyó de forma dosis-dependiente, el ensayo *in vitro* para evaluar la actividad de MAO en presencia de distintas concentraciones del extracto confirmó la ausencia de moléculas inhibitoras de las MAO en el extracto.

En el caso particular de MAO A se observó un aumento aparente en la actividad de la enzima (Fig. 14) en el ensayo *in vivo*, no obstante, este comportamiento se podría atribuir a la presencia de metabolitos de DMT producidos por MAO A, estos metabolitos son de naturaleza indólica y se ha observado que moléculas similares tienen su máximo de intensidad de fluorescencia relativa (emisión) en un rango de 360-380 nm con una longitud de onda de excitación cerca de 300 nm ¹⁹⁶.

La MAO A es selectiva para triptaminas ^{20,104,96}, sin embargo, no se conoce la selectividad de esta enzima cuando existen DMT y quinuramina como sustratos en competencia, la cantidad de fluorescencia medida para 4-hidroquinolina podría estar traslapada con la fluorescencia aportada por metabolitos de DMT, lo que explicaría el aparente aumento de la actividad de MAO A.

Debemos considerar que existen moléculas capaces de inducir la actividad de enzimas, no podemos descartar que algún componente del extracto funcione como un inductor de la actividad de MAO A ¹⁹⁸, lo que afectaría negativamente al evaluar el uso potencial del extracto como fitomedicamento en el tratamiento de algunas ENP, ya que aparentemente estaría favoreciendo la degradación del principio psicoactivo.

No hay suficientes registros etnobotánicos, ni arqueológicos sobre la jurema prieta, un hecho lamentable es que las fuentes directas de información sobre el uso tradicional de la bebida son inaccesibles para la comunidad científica por razones históricas, geográficas y culturales. En ese sentido, los estudios realizados en este proyecto de investigación sobre la fitoquímica y farmacología de *M. tenuiflora* son de especial relevancia debido a que los datos obtenidos amplían el conocimiento químico-biológico sobre esta especie, también contribuyen al entendimiento del uso tradicional de la jurema prieta.

Para tratar de explicar las propiedades psicoactivas de la jurema prieta se debe considerar la existencia de por lo menos otra triptamina en la corteza de *M. tenuiflora* llamada yuremamina ^{64,199} (Fig. 1), debido a su naturaleza química este fitoindol puede ser psicoactivo ⁸¹, otra posibilidad es que se comporte como profármaco ya que en su estructura existen anillos que podrían funcionar como grupos protectores de la triptamina y de ese modo llevar a cabo su actividad en SNC. Lamentablemente no existe información publicada sobre ensayos biológicos que evalúen la actividad de la yuremamina.

Se ha demostrado que *Nicotiana tabacum* tiene actividad iMAO ²⁰⁰, esta especie forma parte importante del juremeiro, sin embargo, no hay consenso, algunos investigadores proponen que se podrían fumar grandes cantidades de las hojas secas durante el ritual, lo cierto es que no hay evidencia científica que lo confirme. Existen documentos históricos que hacen alusión a *N. tabacum* como parte del juremeiro, no obstante, únicamente se menciona como parte de sahumeros y fogatas ²².

Con base en los resultados obtenidos en este trabajo de investigación podemos inferir que las propiedades psicoactivas de la jurema prieta se pueden atribuir a la DMT contenida en la corteza de *M. tenuiflora* sumada a la actividad de algún iMAO A presente en otras especies vegetales utilizadas en la preparación de la bebida o administradas durante la ceremonia, por ejemplo *Passiflora incarnata* o *B. Caapi*.

Se han cuantificado hasta 17.75 mg de DMT por gramo de las hojas de *Psychotria viridis* utilizando HPLC-UV ^{201,202}, considerando que se calcularon 36.39 mg de DMT por gramo de la corteza de *M. tenuiflora* se puede proponer esta especie vegetal como fuente importante para la obtención de DMT. Debemos tomar en cuenta que las hojas de *P. viridis* utilizadas para la elaboración de ayahuasca son poco accesibles debido a que se depredan especímenes silvestres ¹⁹, por el contrario *M. tenuiflora* es ampliamente comercializada en México ¹⁰⁸.

No se encontraron evidencias que respalden el uso de la corteza de *M. tenuiflora* como fitomedicamento en el tratamiento e investigación de ENP. La corteza se podría utilizar como fuente de DMT, sin embargo, en ese caso, debería administrarse junto con un inhibidor de MAO A de forma análoga a la ayahuasca, para conseguir que el principio activo sea absorbido correctamente y se encuentre biodisponible.

Una opción considerable para posibilitar la aplicación terapéutica de *M. tenuiflora* en el tratamiento de ENP es administrar preparados o productos derivados de la corteza por vía intravenosa, pulmonar o sublingual para impedir que la DMT sea degradada por MAO A en el intestino, de esta forma también se estaría evitando el efecto metabólico de primer paso, lo que favorece la biodisponibilidad de DMT.

10. Conclusiones

- Es posible cuantificar DMT en extracto vegetal, plasma y tejido cerebral por HPLC-UV utilizando una molécula de referencia aislada de la corteza de *M. tenuiflora*.

- Los métodos analíticos desarrollados para cuantificar DMT en el extracto de *M. tenuiflora*, plasma y tejido cerebral empleando HPLC-UV son aplicables, exactos y reproducibles.
- Tanto el origen poblacional como la preparación que recibe la corteza de *M. tenuiflora* antes de la cuantificación de DMT podrían influir significativamente en la cantidad del analito medida.
- No se encontraron evidencias de que existan moléculas en el extracto metanólico de la corteza de *M. tenuiflora* capaces de inhibir la actividad de MAO A o MAO B.
- No es recomendable el uso de la corteza de *M. tenuiflora* como fitomedicamento en el tratamiento e investigación de ENP, sin embargo, algunas mezclas de la planta con inhibidores de MAO A podrían ser útiles debido a la cantidad de DMT medida en la corteza.

11. Referencias

1. Haidan Y. et. al. (2016), "The traditional medicine and modern medicine from natural products", *Molecules*, 21; 559-567.
2. Sivakrishnan S. et. al. (2018), "Traditional herbal medicines - A review", *International Journal of Research and Analytical Reviews*, 5; 611-614.
3. Othman N. et. al. (2015), "Traditional and complementary medicine", *Social and Behavioral Sciences*, 170; 262-271.
4. Ujváry I. et. al. (2014), "Psychoactive natural products: overview of recent developments", *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 50; 12-27.
5. Feng L. et. al. (2017), "New psychoactive substances of natural origin: A brief review", *Journal of Food and Drug Analysis*, 25; 461-471.

6. Aboelsoud N. et. al. (2010), "Herbal medicine in ancient Egypt", *Journal of Medicinal Plants Research*, 4; 82-88.
7. Mavrogenis A. et. al. (2019), "Pharmacies for pain and trauma in ancient Greece", *International Orthopaedics*, 43; 1529-1536.
8. Laios K. et. al. (2019), "Drugs for mental illnesses in ancient greek medicine", *Psichiatriki*, 30; 58-63.
9. Bonini S. et. al. (2018), "Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history", *Journal of Ethnopharmacology*, 227; 300-315.
10. Babister S. et. al. (2019), "Dark classics in chemical neuroscience: Δ^9 -Tetrahydrocannabinol", *ACS Chemical Neuroscience*, 10; 2160–2175.
11. Presley C. et. al. (2018), "Dark classics in chemical neuroscience: Opium, a historical perspective", *ACS Chemical Neuroscience*, 10; 2503-2518.
12. Alper K. et. al. (2008), "The ibogaine medical subculture", *Journal of Ethnopharmacology*, 115; 9-24.
13. Cassels B. et. al. (2018), "Dark classics in chemical neuroscience: Mescaline", *ACS Chemical Neuroscience*, 10; 2448-2458.
14. Carod F. et. al. (2015), "Hallucinogenic drugs in pre-Columbian Mesoamerican cultures", *Neurología*, 30; 42-49.
15. Pijoan M. (2003), "Medicina y etnobotánica aztecas", *Offarm*, 22; 128-136.
16. Elferník J. (1999), "Teotlaqualli: The psychoactive food of the aztec gods", *Journal of Psychoactive Drugs*, 31; 435-440.
17. Rood R. et. al. (2011), "Yopo, ethnicity and social change: a comparative analysis of piaroa and cuiva yopo use", *Journal of Psychoactive Drugs*, 43; 36-45.
18. Stolberg V. (2012), "The use of coca: Prehistory, history, and ethnography", *Journal of Ethnicity in Substance Abuse*, 10; 126-146.
19. Drake L. et. al. (2018), "Dark classics in chemical Neuroscience: cocaine", *ACS Chemical Neuroscience*, 10; 2358-2372.
20. Estrella E. et al. (2019), "Ayahuasca: uses, phytochemical and biological activities", *Natural Products and Bioprospecting*, 9; 1-15.

21. Cameron P. et. al. (2018), "Dark classics in chemical neuroscience: *N,N*-dimethyltryptamine (DMT)", *ACS Chemical Neuroscience*, 9; 2344-2357.
22. Samorini G. (2018), "El culto a la Jurema en los documentos históricos". *Revista Cultura y Droga*, 23; 33-47.
23. Rood R. (2011), "Snuff synergy: Preparation, use and pharmacology of yopo and *Banisteriopsis caapi* among the piaroa of southern Venezuela", *Journal of Psychoactive Drugs*, 34; 273-279.
24. Barrandeguy M. et. al. (2016), "Demografía histórica de *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Leguminosae) en Argentina", *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 51; 689-703.
25. Monteiro J. et. al. (2006), "Use and traditional management of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan in the semi-arid region of northeastern Brazil", *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2; 1-7.
26. Spinella M. et. al. (2002), "The importance of pharmacological synergy in psychoactive herbal medicines", *Alternative Medicine Review*, 7; 130-137.
27. Ott J. (2012), "Pharmahuasca: Human pharmacology of oral DMT plus harmine", *Journal of Psychoactive Drugs*, 31; 171-177.
28. Benko J. et. al. (2020), "Natural psychoplastogens as antidepressant agents", *Molecules*, 25; 1172-1190.
29. Hazrulrizawati A. et. al. (2017), "Indole alkaloids from plants as potential leads for antidepressant drugs: A mini review", *Frontiers in Pharmacology*, DOI:10.3389/fphar.2017.00096.
30. Sharma B. et. al. (2017), "Antidepressants: mechanism of action, toxicity and possible amelioration", *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 3; 437-448.
31. Voltaw V. et. al. (2019), "The epidemiology of benzodiazepine misuse: A systematic review", *Drug and Alcohol Dependence*, 200; 95-114.
32. Vollenweider F. et. al. (2010), "The neurobiology of psychedelic drugs: Implications for the treatment of mood disorders", *Nature Reviews Neuroscience*, 11; 642-651.
33. Krebs T. et. al. (2013), "Psychedelics and mental health: A population study", *PLOS ONE*, 8; 1-9.

34. Kuypers K. (2019), "Psychedelic medicine: The biology underlying the persisting psychedelic effects", *Medical Hypotheses*, 125; 21-24.
35. Dos Santos R. et. al. (2016), "Antidepressive, anxiolytic, and antiaddictive effects of ayahuasca, psilocybin and lysergic acid diethylamide (LSD): a systematic review of clinical trials published in the last 25 years", *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, 6; 193-213.
36. Dos Santos R. et. al. (2018), "Efficacy, tolerability, and safety of serotonergic psychedelics for the management of mood, anxiety, and substance-use disorders: a systematic review of systematic reviews", *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 11; 889-902.
37. Reiche S. et. al. (2018), "Serotonergic hallucinogens in the treatment of anxiety and depression in patients suffering from a life-threatening disease: A systematic review", *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 81; 1-10.
38. Mutoni S. et. al. (2019), "Classical psychedelics for the treatment of depression and anxiety: A systematic review", *Journal of Affective Disorders*, 258;11-24.
39. Dos Santos R. et. al. (2016), "Classical hallucinogens and neuroimaging: A systematic review of human studies hallucinogens and neuroimaging", *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 71; 715-728.
40. Bogenschutz P. et. al. (2016), "Classic hallucinogens in the treatment of addictions", *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 64; 250-258.
41. Noorani T. et. al. (2018) "Psychedelic therapy for smoking cessation: qualitative analysis of participant accounts", *Journal of Psychopharmacology*, 32; 756-769.
42. Hendricks P. (2014). "Back to the future: A return to psychedelic treatment models for addiction", *Journal of Psychopharmacology*, 28; 981-982.
43. Winkelman M. et. al. (2014), "Psychedelics as medicines for substance abuse rehabilitation: Evaluating treatments with LSD, peyote, ibogaine and Ayahuasca", *Current Drug Abuse Reviews*, 7; 101-116.

44. Nielson E. et. al. (2018), "The psychedelic debriefing in alcohol dependence treatment: Illustrating key change phenomena through qualitative content analysis of clinical sessions", *Frontiers in Neuropharmacology*, 9;1-13.
45. O'Callaghan C. et. al. (2020), "Experience of music used with psychedelic therapy: A rapid review and implications", *Journal of Music Therapy*, DOI: 10.1093/jmt/thaa006.
46. Kaelen M. et. al. (2017), "The hidden therapist: evidence for a central role of music in psychedelic therapy", *Psychopharmacology*, 235; 505-519.
47. Streeter F. (2018), "Psychedelics and music: neuroscience and therapeutic implications", *International Review of Psychiatry*, 30; 1-13
48. Kuypers K. (2018), "Out of the box: A psychedelic model to study the creative mind", *Medical Hypotheses*, 115;13-16.
49. Bouso J. et. al. (2018), "Serotonergic psychedelics and personality: A systematic review of contemporary research", *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 87; 118-132.
50. Aixala M. et. al. (2018), "Psychedelics and personality", *ACS Chemical Neuroscience*, 9 ;2304-2306.
51. Geiger H. et. al. (2018), "Dark classics in chemical neuroscience: Psilocybin ", *ACS Chemical Neuroscience*, 10; 2438-2447.
52. Burillo G. et. al. (2013), "Emergent drugs (III): Hallucinogenic plants and mushrooms", *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 36; 505-518.
53. Dobkin M. et. al. (2013), "Hallucinogens and redemption", *Journal of Psychoactive Drugs*, 34; 239-248.
54. Hupli A. et. al. (2019), "Descriptive assemblage of psychedelic microdosing: Netnographic study of Youtube™ videos and on-going research projects", *Performance Enhancement & Health*, 6;129-138.
55. Malcolm B. et. al. (2017), "Ayahuasca: An ancient sacrament for treatment of contemporary psychiatric illness?", *Mental Health Clinician*, 7; 39-45.
56. Lanaro R. et. al. (2015), "Ritualistic use of ayahuasca versus street use of similar substances seized by the police: a key factor involved in the potential for intoxications and overdose?", *Journal of Psychoactive Drugs*, 47;132-137.

57. O'Neill C. et. al. (2019), "Natural psychoactive substance-related exposures reported to United States poison control centers, 2000-2017", *Clinical Toxicology*, 25; 1-8.
58. Barker S. (2018), "*N,N*-dimethyltryptamine (DMT), an endogenous hallucinogen: Past, present, and future research to determine its role and function", *Frontiers in Neuroscience*, DOI: 10.3389/fnins.2018.00536.
59. Souza R. et. al. (2019), "Validation of an analytical method for the determination of the main ayahuasca active compounds and application to real ayahuasca simples from Brazil", *Journal of Chromatography B*, 1124, 197-203.
60. Oliveira G. et. al. (2020), "Stability evaluation of DMT and harmala alkaloids in Ayahuasca tea simples", *Molecules*, DOI: 10.3390/molecules25092072.
61. Gaujak A. et. al. (2012), "Determination of *N,N*-dimethyltryptamine in *Mimosa tenuiflora* inner barks by matrix solid-phase dispersion procedure and GC-MS", *Journal of Chromatography B*, 881, 107-110.
62. Gaujak A. et. al. (2013), "Investigations into the polymorphic properties of *N,N*-dimethyltryptamine by X-ray diffraction and differential scanning calorimetry", *Microchemical Journal*, 110; 146-157.
63. Lozoya M. et. al. (1990), "*N,N*-dimethyltryptamine alkaloid in *Mimosa tenuiflora* bark (tepescohuite)", *Archivos de Investigación Médica*, 21; 175-177.
64. Vepsäläinen J. et. al. (2005), "Isolation and characterization of yuremamine, a new phytoindole", *Planta Medica*, 71; 1053-1057.
65. Nicasio M. et. al. (2005), "Variation in the accumulation levels of *N,N*-dimethyltryptamine in micropropagated trees and in vitro cultures of *Mimosa tenuiflora*", *Natural Products Research*, 19; 61-67.
66. Gaujak A. et. al. (2013), "Application of critical analytical methods for the structural characterization and purity assessment of *N,N*-dimethyltryptamine, a potent psychedelic agent isolated from *Mimosa tenuiflora* inner barks", *Microchemical Journal*, 109; 78-83.
67. Araujo I. et. al. (2020), "Chemical study of *Mimosa tenuiflora* barks", *Natural Product Research*, DOI: 10.1080/14786419.2020.1813135.

68. Cohen I. et al. (1972), "Determination and physiological disposition of dimethyltryptamine and diethyltryptamine in rat brain, liver and plasma", *Biochemical Pharmacology*, 21;1214-1216.
69. Callaway J. et al. (1996), "Quantitation of *N,N*-dimethyltryptamine and harmala alkaloids in human plasma after oral dosing with ayahuasca", *Journal of Analytical Toxicology*, 20;492-497.
70. Yritia M. et al. (2002), "Determination of *N,N*-dimethyltryptamine and β -carboline alkaloids in human plasma following oral administration of Ayahuasca", *Journal of Chromatography B*, 779;271-281.
71. Oliveira C. et al. (2012), "Determination of dimethyltryptamine and β carbolines (ayahuasca alkaloids) in plasma samples by LC-MS/MS", *Bioanalysis*, 4;1731-1738.
72. Barker S. et al. (2013), "LC-MS/MS analysis of the endogenous dimethyltryptamine hallucinogens, their precursors, and major metabolites in rat pineal gland microdialysate", *Biomedical Chromatography*, 27;1690-1700.
73. Dean J. et al. (2019), "Biosynthesis and extracellular concentrations of *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) in Mammalian Brain", *Nature*, DOI: 10.1038/s41598-019-45812-w.
74. Körmöczy T. et al. (2020), "Heart-cutting two-dimensional liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap high resolution mass spectrometry for determination of *N,N*-dimethyltryptamine in rat plasma and brain; Method development and application", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113615.
75. McIlhenny E. et al. (2012) "Methodology for determining major constituents of ayahuasca and their metabolites in blood", *Biomedical Chromatography*, 26; 301-313.
76. McIlhenny, E. et al. (2011) "Methodology for and the determination of the major constituents and metabolites of the amazonian botanical medicine ayahuasca in human urine", *Biomedical Chromatography*, 25;970-984.
77. De Oliveira. G. et al. (2020), "Fast hollow fiber liquid-phase microextraction as a greener alternative for the determination of *N,N*-

dimethyltryptamine and harmala alkaloids in human urine”, *Frontiers in Chemistry*, DOI:10.3389/fchem.2020.558501.

78. Pichini S. et al. (2014), “Ultra-high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of hallucinogenic drugs in hair of psychedelic plants and mushrooms consumers” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 100;284-289.

79. Chambers M. et. al. (2020), “Detection and quantification of psychoactive *N,N*-dimethyltryptamine in ayahuasca brews by Ambient Ionization High-Resolution Mass Spectrometry, *ACS Omega*,5 ;28547-28554.

80. Callaway J. et. al. (2005) “Phytochemical analyses of *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*”, *Journal of Psychoactive Drugs*, 37; 145-150.

81. Sperry J. et. al. (2015), “Bioinspired total synthesis and structural revision of yuremamine, an alkaloid from the entheogenic plant *Mimosa tenuiflora*”, *Chemical Communications*, 51; 6202-6205.

82. Calvert M. (2016), “Synthetic studies towards putative yuremamine using an iterative C(sp³)-H arylation strategy”, *Organic and Biomolecular Chemistry*, 14; 5728–5743.

83. Klein L. et. al. (2017), “Targeted isolation of monoterpene indole alkaloids from *Palicourea sessilis*”, *Journal of Natural Products*, 80; 3032-3037.

84. Kutchan T. (1995), “Alkaloid biosynthesis - the basis for metabolic engineering of medicinal plants”, *The Plant Cell*, 7; 1059-1070.

85. Smith R. et. al. (1998), “Agonist properties of *N,N*-dimethyltryptamine at serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors”, *Pharmacology biochemistry and behavior*, 3;323-330.

86. Barnes M. (1999), “A review of central 5-HT receptors and their function” , *Neuropharmacology*, 38; 1083-1152.

87. Geiger H. et. al. (2018), “Dark classics in chemical neuroscience: Psilocybin ”, *ACS Chemical Neuroscience*, 10; 2438-2447.

88. Dos Santos R. et. al. (2019), “Ayahuasca, an ancient substance with traditional and contemporary use in neuropsychiatry and neuroscience”, *Epilepsy & Behavior*, DOI: 10.1016/j.yebeh.2019.04.053.

89. Reiff C. et. al. (2020), "Psychedelics and Psychedelic-Assisted Psychotherapy", *American Journal of Psychiatry* 177; 391-410.
90. Więckiewicz G. et. al. (2021), "Lysergic acid diethylamide, Psilocybin and Dimethyltryptamine in depression treatment: A systematic review", *Pharmaceuticals*, 14; 793-804.
91. Nutt D. (20), "Psychedelic drugs-a new era in psychiatry?", *Dialogues in Clinical Neuroscience* 21; 139-147.
92. Dominguez E. et. al. (2018), "Ayahuasca improves emotion dysregulation in a community sample and in individuals with borderline-like traits", *Psychopharmacology*, 236; 573-580.
93. Pasquini L. et. al. (2020), "Subacute effects of the psychedelic ayahuasca on the salience and default mode networks", *Journal of Psychopharmacology*, DOI: 10.1101/19007542.
94. Inserra A. et. al. (2018), "Hypothesis: The psychedelic ayahuasca heals traumatic memories via a Sigma 1 receptor-mediated epigenetic-mnemonic process", *Frontiers in Neuropharmacology*, 9; 1-13.
95. Dominguez E. et. al. (2016), "Ayahuasca: Pharmacology, neuroscience and therapeutic potential", *Brain Research Bulletin*, 126; 89-101.
96. Dos Santos R. et. al. (2016), "The current state of research on ayahuasca: A systematic review of human studies assessing psychiatric symptoms, neuropsychological functioning, and neuroimaging", *Journal of Psychopharmacology*, 30; 1230-1247.
97. Dos santos G. et. al. (2018), "Long-term effects of ayahuasca in patients with recurrent depression: a 5 year qualitative follow-up", *Archives of Clinical Psychiatry*, 45;22-24.
98. Ona. G. et. al. (2019), "Ayahuasca and public health: Health status, psychosocial well-being, lifestyle, and coping strategies in a large sample of ritual ayahuasca users", *Journal of Psychoactive Drugs*, 51; 135-145.
99. Jimenez D. et. al. (2020), "Effects of Ayahuasca on mental health and quality of life in naïve users: A longitudinal and crosssectional study combination", *Scientific Reports*, 10; 1-12.

100. Dos Santos .et. al. (2007),” Effects of ayahuasca on psychometric measures of anxiety, panic-like and hopelessness in Santo Daime members”, *Journal of Ethnopharmacology*, 11;507–513.
101. Riba J et. al. (2001), “Subjective effects and tolerability of the South American psychoactive beverage ayahuasca in healthy volunteers”, *Psychopharmacology*; 154; 85-95.
102. Tatjana J. et. al. (2010), “Subjective theories about (self-) treatment with ayahuasca”, *Anthropology of Consciousness*, 21;188-204.
103. Hofmann A. et. al. (2012), “Plants of the gods: Origins of hallucinogenic use”, *Fondo de Cultura Economica*, 2ª Ed;48-49, pp. 198.
104. Gaujak A. et. al. (2012), “Analytical techniques for the determination of tryptamines and β -carbolines in plant matrices and in psychoactive beverages consumed during religious ceremonies and neo-shamanic urban practices”, *Drug testing and analysis*, 4; 636-648.
105. Ramsay R. et. al (2018), “Kinetics, mechanism, and inhibition of monoamine oxidase”, *Journal of Neural Transmission*, DOI: 10.1007/s00702-018-1861-9.
106. Anton R. et. al. (1993) “Pharmacognosy of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret”, *Journal of Ethnopharmacology*, 38; 153-157.
107. Rivera E. et. al. (2017), “Pharmacognostical studies of the plant drug *Mimosae tenuiflorae* cortex”, *Journal of Ethnopharmacology*, 113; 400-408.
108. Camargo S. (2000), “Descripción, distribución, anatomía, composición química y usos de *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae-Mimosoideae) en México”, *Revisa de Biología Tropical*, 48; 939-954.
109. Camargo S. et. al. (1994), “Germinación, dispersión y establecimiento de plántulas de *Mimosa tenuiflora* (Leguminosae) en México”, *Revisa de Biología Tropical*, 46; 543-554.
110. Camargo S. (1994), “Uso medicinal del “tepescohuite”, *Mimosa tenuiflora* (Leguminoseae) en Mexico”, *Contacto*, 5; 29-34.
111. Cadena P. et. al. (2018), “Tepezcohuite (*Mimosa tenuiflora* (L) Willd) el árbol de la piel”, *Agroproductividad*, 11;10-16.

112. Cruz M. et al. (2016), "Antinoceptive and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract, fractions and flavones Isolated from *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir (Leguminosae)", *Public Library of Science One*, 11; 1-29.
113. Magalhães F. et. al. (2018), "Orofacial antinociceptive effect of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret", *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97; 1575-1585.
114. Zippel J. et. al. (2009), "Arabinogalactans from *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret bark as active principles for wound-healing properties: Specific enhancement of dermal fibroblast activity and minor influence on HaCaT keratinocytes", *Journal of Ethnopharmacology*, 124; 391-396.
115. Bautista E. et. al. (2011), "Antiprotozoal activity of flavonoids isolated from *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae-Mimosoideae)", *Journal of the Mexican Chemical Society*, 55; 251-253.
116. Araujó E. et. al. (2017) "Antibacterial and antifungal activities of "pyroligneous acid from wood of *Eucalyptus urograndis* and *Mimosa tenuiflora*", *Journal of Applied Microbiology*, 124; 85-96.
117. Leite S. et. al. (2015) "Antibacterial and hemolytic activities of *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir. (Mimosoidea)", *African Journal of Microbiology Research*" 9; 2166-2171.
118. Becerra D. et al. (2011) "Abordagem fitoquímica, composição bromatológica e atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Duck", *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, 33; 99-106.
119. Arce E. et. al. (2006), "Therapeutic effectiveness of a *Mimosa tenuiflora* cortex extract in venous leg ulceration treatment", *Journal of Ethnopharmacology*, 109; 523-528.
120. Da Souza R. et. al. (2008), "Jurema-Preta (*Mimosa tenuiflora*): a review of its traditional use, phytochemistry and pharmacology", *Brazilian Archives of Biology and Tecnology*, 51;937-947.
121. León L. et. al. (2004), "Tenuiflorins A-C: New 2-Phenoxichromones from the leaves of *Mimosa tenuiflora*, *Planta Medica*, 70 ;536-539.
122. Jiang Y. et. al. (1991), "Triterpenoid glycosides from the bark of *Mimosa tenuiflora*", *Phytochemistry*, 30; 2357-2360.

123. Strassman R. et. al. (1994), "Dose-Response study of *N,N*-dimethyltryptamine in humans I. Neuroendocrine, autonomic, and cardiovascular effects", *Archives of General Psychiatry*, 51; 85-97.
124. Strassman R. et. al. (1994), "Dose-Response study of *N,N*-dimethyltryptamine in humans: II. Subjective effects and preliminary results of a new rating scale", *Archives of General Psychiatry*, 51; 98-108.
125. Olson E. et. al. (2018), "Reaction of *N,N*-dimethyltryptamine with dichlorometane under common experimental conditions", *American Chemical Society Omega*, 3; 4968-4973.
126. Carbonaro T. et. al. (2016), "Neuropharmacology of *N,N*-dimethyltryptamine", *Brain- Research Bulletin*, 126; 74-88.
127. Caiubi B. (2012), "Ayahuasca and the process of regulation in brazil and internationally: implications and challenges", *International Journal of Drug Policy*, 23; 154-161.
128. Tupper K. (2008), "The globalization of ayahuasca: Harm reduction or benefit maximization?", *International Journal of Drug Policy*, 19; 297-303.
129. Gomez M. et. al. (2014), "Biosynthesis of *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) in a melanoma cell line and its metabolization by peroxidases", *Biochemical Pharmacology*, 88; 393-401.
130. Thompson M. et. al. (1999), "Human indolethylamine *N*-methyltransferase: cDNA cloning and expression, gene cloning, and chromosomal localization", *Genomics*, 69; 285-297.
131. Gonçalves O. (1946), "Ovservações sobre o 'vino da Jurema' utilizado pelos índios Pancurú de Tacaratú (Pernambuco)", *Arquivos do Instituto de Pesquisas Agronomicas*, 4; 45-80.
132. Fish M. (1955), "Piptadenia alkaloids. indole bases of *P. peregrina* (L.) Benth. and related species", *Journal of the American Chemical Society*, 72; 5892-5895.
133. Barker S. et. al. (2012), "A critical review of reports of endogenous psychedelic *N,N*-dimethyltryptamines in humans: 1955-2010", *Drug testing and analysis*, 4; 617-635.

134. Rodrigues A. et al. (2019), "Dimethyltryptamine: Endogenous role and therapeutic potential", *Journal of Psychoactive Drugs*, 51; 299-310.
135. Frecska E. (2013), "A possibly Sigma-1 receptor mediated role of dimethyltryptamine in tissue protection, regeneration, and immunity", *Journal of Neural Transmission*, 120; 1295-1303.
136. Fontanilla D. et al. (2009), "The hallucinogen *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) is an endogenous Sigma-1 receptor regulator", *Science*, 323; 934-937.
137. Su T. et al. (2009), "When the endogenous hallucinogenic trace amine *N,N*-dimethyltryptamine meets the Sigma-1 receptor", *Science Signaling*, DOI: 10.1126/scisignal.261pe12.
138. Vinhera B. et al. (2018), "Comparing the detection of endogenous psychedelics in individuals with and without alleged mediumistic experiences" *Explore*, 14; 448-452.
139. Nichols D. (2018), "*N,N*-dimethyltryptamine and the pineal gland: separating fact from myth", *Journal of Psychopharmacology*, 32; 31-36.
140. Griffiths R. et al. (2019), "Survey of subjective "God encounter experiences": Comparisons among naturally occurring experiences and those occasioned by the classic psychedelics psilocybin, LSD, Ayahuasca, or DMT", *PLOS ONE*, DOI: 10.1371/journal.pone.0214377.
141. Dos Santos R. et al. (2018), "Ayahuasca turned on my mind's eye": Enhanced visual imagery after ayahuasca intake in a man with "blind imagination" (aphantasia)", *Journal of Psychedelic Studies*, DOI: 10.1556/2054.2018.008.}
142. Frecska E. et al. (2016), "The therapeutic potentials of ayahuasca: Possible effects against various diseases of Civilization", *Frontiers in Pharmacology*, DOI: 10.3389/fphar.2016.00035.
143. Sanches R. et al. (2016) "Antidepressant effects of a single dose of ayahuasca in patients with recurrent depression: a SPECT study". *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 36; 77-81.
144. Palhano F. (2019), "Rapid antidepressant effects of the psychedelic Ayahuasca in treatment-resistant depression: a randomized placebo-controlled trial", *Psychological Medicine*, 49; 655-666.

145. Baumeister B. et. al. (2015), "Classical hallucinogens as antidepressants?" A review of pharmacodynamics and putative clinical roles", *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, DOI: 10.1177/2045125314527985.
146. Cameron P. et. al. (2018), "Effects of *N,N*-dimethyltryptamine on rat behaviors relevant to anxiety and depression", *ACS Chemical Neuroscience*, 9; 1582-1590.
147. Cameron L. et. al. (2018), "Chronic, intermittent microdoses of the psychedelic *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) produce positive effects on mood and anxiety in rodents", *ACS Chemical Neuroscience*, 10; 3261-3270.
148. Soler J. et. al. (2016), "Exploring the therapeutic potential of ayahuasca: acute intake increases mindfulness-related capacities", *Psychopharmacology*, 233; 823-829.
149. Brown T. (2017), "A physician's attempt to self-medicate bipolar depression with *N,N*-dimethyltryptamine (DMT)", *Journal of Psychoactive Drugs*, 49; 294-296.
150. Bouso J. (2012), "Personality, psychopathology, life attitudes and neuropsychological performance among ritual users of ayahuasca: a longitudinal study", *PLOS ONE*, DOI: 0.1371/journal.pone.0042421.
151. Dos Santos R. (2007), "Ayahuasca, dimethyltryptamine, and psychosis: a systematic review of human studies", *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, 7; 141-157.
152. Nunes A. et. al. (2015), "Effects of ayahuasca and its alkaloids on drug dependence: a systematic literature review of quantitative studies in animals and humans", *Journal of Psychoactive Drugs*, 48; 195-205.
153. Hamill J. et. al. (2018), "Ayahuasca: Psychological and physiologic effects, pharmacology and potential uses in addiction and mental illness", *Current Neuropharmacology*, 16; 1-19.
154. Laun W. et. al. (2017), "Well-being, problematic alcohol consumption and acute subjective drug effects in past-year Ayahuasca users: a large, international, selfselecting online survey", *Scientific Reports*, 7; 1-10.

155. . Katchborian A. (2020), "Neuroprotective potential of Ayahuasca and untargeted metabolomics analyses: applicability to Parkinson's disease", *Journal of Ethnopharmacology*, 255; 1-16.
156. Morales J. et. al. (2020), "*N,N*-dimethyltryptamine compound found in the hallucinogenic tea ayahuasca, regulates adult neurogenesis *in vitro* and *in vivo*", *Translational Psychiatry*, DOI: 10.1038/s41398-020-01011-0.
157. . Ly C. et. al. (2019), "Psychedelics promote structural and functional neural plasticity", *Cell Reports*, 23; 3170-3182.
158. Bardin L. et. al. (2011), "The complex role of serotonin and 5-HT receptors in chronic pain" *Behavioural Pharmacology*, 22; 390-404.
159. Castellanos J. et. al. (2020), "Chronic pain and psychedelics: a review and proposed mechanism of action" , *Regional Anesthesia & Pain Medicine*, DOI: 10.1136/rapm-2020-101273.
160. Cozzi et. al. (2020), "Synthesis and characterization of high-purity *N,N*-dimethyltryptamine (DMT) hemifumarate for human clinical trials", *Drug Testing and Analysis*, 12; 1483-1493
161. Brandt S. et. al. (2010), "Characterization of the synthesis of *N,N*-dimethyltryptamine by reductive amination using gas chromatography ion trap mass spectrometry. *Drug Testing and Analysis*, 2;330-338.
162. Brandt S. et. al. (2005), "Analytical chemistry of synthetic routes to psychoactive tryptamines. Part II. Characterisation of the Speeter and Anthony synthetic route to *N,N*-dialkylated tryptamines using GC-EI-ITMS, ESITQ-MS MS and NMR. *Analyst* ,130;330-344.
163. Brandt S. (2005), "Analytical chemistry of synthetic routes to psychoactive tryptamines. Part III. Characterisation of the Speeter and Anthony route to *N,N*-dialkylated tryptamines using CI-IT-MS-MS", *Analyst*, 130; 1258-1262.
164. Lembke A, et. al. (2012) "Time to abandon the Self-Medication Hypothesis in patients with psychiatric disorders", *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 38; 524-529.

165. Jones J. et. al. (2012), "Polydrug abuse: A review of opioid and benzodiazepine combination use", *Drug and Alcohol Dependence*, DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2012.07.004.
166. Kraehenmann R. (2017), "Dreams and psychedelics: neurophenomenological comparison and therapeutic implications", *Current Neuropharmacology*, 15; 1032-1042.
167. Barbosa P. et. al. (2005), "Altered states of consciousness and short-term psychological after-effects induced by the first time ritual use of ayahuasca in an urban context in Brazil", *Journal of Psychoactive Drugs*, 37; 193-201.
168. Nichols D. et. al. (2012), "Structure-activity relationships of serotonin 5-HT_{2A} agonists", *Membrane Transport and Signaling*, 1, 559-579.
169. Vidak A. et. al. (2015), "Cation- π interaction of *N,N*-Dimethyltryptamine in hydrochloric acid solution characteristic to gastric acid", *Integrative Molecular Medicine*, 2; 354-357.
170. Deakin J. et. al. (1998), "The role of serotonin in depression and anxiety", *European psychiatry*, 13; 57-63.
171. Valle M. et. al. (2016), "Inhibition of alpha oscillations through serotonin-2A receptor activation underlies the visual effects of ayahuasca in humans" *Neuropsychopharmacology*, 26; 1161-1175.
172. Dos Santos R. et. al. (2014), "Immunological effects of ayahuasca in humans", *Journal of Psychoactive Drugs*, 43; 383-388.
173. Miller A. et. al. (2013), "Cytokine targets in the brain: Impact on neurotransmitters and neurocircuits", *Depress Anxiety*, 30; 297-306.
174. Szabo A. et. al. "Dimethyltryptamine (DMT): a biochemical swiss Army knife in neuroinflammation and neuroprotection?", *Neural Regeneration Research*, 11; 396-397.
175. Howell L. et. al. (2015), "Serotonin 5-HT₂ receptor interactions with dopamine function: implications for therapeutics in cocaine use disorder", *Pharmacological Reviews*, 67;176-197.

176. Marques A. et. al. (2020), "Effects of combined 5-HT_{2A} and cannabinoid receptor modulation on a schizophrenia-related prepulse inhibition deficit in mice", *Psychopharmacology*, 237;1643-1655.
177. Dos Santos R. et. al. (2018), "Possible interactions between 5-HT_{2A} receptors and the endocannabinoid system in humans: preliminary evidence of interactive effects of ayahuasca and endocannabinoids in a healthy human subject", *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 38;644-646.
178. Celada C. et. al. (2013), "Serotonin 5-HT_{1A} receptors as targets for agents to treat psychiatric disorders: rationale and current status of research" *CNS Drugs*, 27;703-716.
179. Nguyen L. et. al. (2015), "Role of sigma-1 receptors in neurodegenerative diseases", *Journal of Pharmacological Sciences*, 127;17-29."
180. Gris G. et. al. (2015), "Sigma-1 receptor and inflammatory pain" *Inflammation Research*, 64;377-381.
181. Strassman R. (1996), "Human psychopharmacology of *N,N*-dimethyltryptamine", *Behavioural Brain Research*. 73, 121–124.
182. Garcia J. et. al. (2017), "The alkaloids of *Banisteriopsis caapi*, the plant source of the Amazonian hallucinogen ayahuasca, stimulate adult neurogenesis in vitro", *Nature*, DOI: 10.1038/s41598-017-05407-9.
183. Ai-Ming Y. (2008), "Indolealkylamines: Biotransformations and potential drug–drug interactions", *The AAPS journal*, 10; 242-253.
184. Riba J. et. al. (2015), "Metabolism and urinary disposition of *N,N*-dimethyltryptamine after oral and smoked administration: A comparative study" *Drug Test Analysis*, 7; 401-406.
185. Riba J. (2003), "Human pharmacology of ayahuasca: Subjective and cardiovascular effects, monoamine metabolite excretion, and pharmacokinetics", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306; 73-83.
186. Dinger J. et. al. (2016), "Cytochrome P450 inhibition potential of new psychoactive substances of the tryptamine class", *Toxicology Letters* 241;82-94.

187. Ting Z et. al. (2011); "Inhibition of human cytochrome P450 enzymes 3A4 and 2D6 by β -carboline alkaloids, harmine derivatives", *Phytotherapy Research*, 25; 1671-1677.
188. Simão A. et. al. (2019), "Toxicological aspects and determination of the main components of ayahuasca: a critical review", *Medicines*, DOI: 10.3390/medicines6040106.
189. Szára S, (2007), "DMT at fifty", *Neuropsychopharmacologia Hungarica*, 9; 201-205.
190. Duffau B. et. al. (2014), "Thin-Layer Chromatography method for the detection of *N,N*-dimethyltryptamine in seized street samples", *Journal of Planar Chromatography*, 27; 477-479
191. Raal A. et. al. (2020), "Dragendorff's reagent: Historical perspectives and current status of a versatile reagent introduced over 150 years ago at the University of Dorpat, Tartu, Estonia", *Pharmazie*, 75; 299-306
192. Lamb A. et. al. (2015), "Product in indole detection by Ehrlich's reagent", *Analytical Biochemistry*, 484; 21-23.
193. Durmus H. et. al. (2018), "Colorimetric determination of (aminoalkil)indole-containing synthetic cannabimimetics", *Analytical Sciences*, 34;1419-1425.
194. Pérez I. et. al. (2009), "Inhibitory effect of dehydroepiandrosterone on brain monoamine oxidase activity: in vivo and in vitro studies", *Life Sciencens*, 85; 652-656.
195. Olson B. et. al. (2016), "Assays for determination of protein concentration", *Current Protocols in Pharmacology*, DOI: 10.1002/cpph.3.
196. Zöllner T. et. al. (2013), "Herbal Reference Estandars: Applications, definitions and regulatory requeriments, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, DOI: 10.1590/S0102-695X2012005000144.
197. Huhn C. et. al. (2005), "Determination of tryptamine derivatives in illicit synthetic drugs by capillary electrophoresis and ultraviolet laser-induced fluorescence detection", *Electrophoresis*, 26; 2391-2401.
198. Boyang J. et. al. (2011), "Valproic acid induces monoamine oxidase A via Akt/Forkhead Box O1 activation", *Molecular Pharmacology*, 80; 714-723.

199. Callaway J. et. al. (2005), "Phytochemical analyses of *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis*", *Journal of Psychoactive Drugs*, 37; 145-150.
200. Berlin I. et. al. (2001), "Monoamine oxidases and tobacco smoking", *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 4;33-42.
201. Chambers M. et. al. (2020), "Detection and quantification of psychoactive *N,N*-dimethyltryptamine in ayahuasca brews by Ambient Ionization High-Resolution Mass Spectrometry, *ACS Omega*, 5; 28547-28554.
202. Kaasik H. et. al. (2020), "Chemical composition of traditional and analog ayahuasca", *Journal of Psychoactive Drugs*, DOI: 10.1080/02791072.2020.1815911.