



UNODC

Oficina de las Naciones Unidas
contra la Droga y el Delito



Métodos recomendados para la identificación y el análisis de los agonistas de los receptores de cannabinoides sintéticos en los materiales incautados

*MANUAL PARA USO DE LOS LABORATORIOS NACIONALES
DE ANÁLISIS DE DROGAS*

Créditos de la foto:

Centro Médico Universitario de Friburgo (Alemania)
Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos de la UNODC

Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos
OFICINA DE LAS NACIONES UNIDAS CONTRA LA DROGA Y EL DELITO
Viena

**Métodos recomendados
para la identificación y el análisis
de los agonistas de los receptores
de cannabinoides sintéticos
en los materiales incautados**

MANUAL PARA USO DE LOS LABORATORIOS NACIONALES
DE ANÁLISIS DE DROGAS



NACIONES UNIDAS
Nueva York, 2014

Nota

Las condiciones operacionales y experimentales se basan en los materiales de referencia originales, incluidos los métodos no publicados, validados y usados en determinados laboratorios nacionales, con arreglo a la lista de referencias proporcionada. En muchos casos, podrán obtenerse resultados comparables en otras condiciones y utilizando productos comerciales distintos de los mencionados, pero toda modificación deberá validarse antes de su uso habitual en el laboratorio.

La mención de nombres de empresas y productos comerciales no implica su aprobación por parte de las Naciones Unidas.

ST/NAR/48

Original: inglés

© Naciones Unidas, Enero de 2014. Reservados todos los derechos en todo el mundo.

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican juicio alguno por parte de la Secretaría sobre la condición jurídica de ningún país, territorio, ciudad o zona, o de sus autoridades, o sobre el trazado de sus fronteras o límites.

El presente *Manual* se publica sin revisión editorial.

Producción editorial: Sección de Servicios en Inglés, Publicaciones y Biblioteca, Oficina de las Naciones Unidas en Viena.

Agradecimientos

La Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos de la UNODC, presidida por el Dr. Justice Tettey, desea expresar su reconocimiento y gratitud al Dr. Volker Auwärter del Centro Médico Universitario de Friburgo (Alemania) y al Sr. Michael Pütz de la Oficina Federal de Policía Criminal (BKA) de Alemania por la preparación del proyecto final del presente *Manual*.

La Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos desea también dar las gracias a los siguientes expertos por su aportación de métodos analíticos de sus respectivos laboratorios:

Dr. Jan Schäper y Dr. Marc Wende, de la Oficina de Investigaciones Penales del estado de Baviera (BLKA) (Alemania); Sr. Christoph Härtel y Sr. Thorsten Rössler, de la Oficina Federal de Policía Criminal (BKA) de Alemania; Sr. Björn Moosmann y Sr. Stefan Kneisel, del Centro Médico Universitario de Friburgo (Alemania); y Profesor Veniero Gambaro y Dra. Gabriella Roda, de la Universidad de Milán (Italia).

Se agradecen asimismo las observaciones y aportaciones de los siguientes expertos al proceso de examen por homólogos:

Dra. Laurence Dujourdy, del Instituto Nacional de Policía Científica (Francia); Dra. Jenny Rosengren Holmberg, del Laboratorio Nacional de Ciencia Forense (Suecia); Sra. Ulla-Maija Laakkonen, de la Oficina Nacional de Investigación (Finlandia); Sra. Emma Tiainen, del Laboratorio Finlandés de Aduanas (Finlandia); Dr. Folker Westphal, de la Oficina Estatal de Investigaciones Penales (Landeskriminalamt) de Alemania; y Dr. Dariusz Zuba, del Instituto de Investigaciones Forenses (Polonia).

La preparación del presente *Manual* fue coordinada por la Sra. Yen Ling Wong, funcionaria de la Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos. Se agradecen también las contribuciones de otros funcionarios de la Sección.

Índice

	<i>Página</i>
1. Introducción	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Finalidad y uso del <i>Manual</i>	2
2. Aspectos generales	5
2.1 Definición de los cannabinoides sintéticos	5
2.2 Clasificación química	5
2.3 Productos y modos de administración	6
3. Descripción de los compuestos puros	9
3.1 Cannabinoides clásicos	9
3.2 Cannabinoides no clásicos	10
3.3 Cannabinoides híbridos	10
3.4 Aminoalquilindoles	11
3.5 Eicosanoides	16
3.6 Otros	17
4. Producción y desviación	19
4.1 Síntesis de compuestos puros	19
4.2 Producción de preparados a base de hierbas	20
4.3 Precursores y fuentes	20
4.4 Materiales incautados típicos	21
4.5 Agentes adulterantes/enmascarantes	21
5. Análisis cualitativo y cuantitativo de los materiales que contienen cannabinoides sintéticos	23
5.1 Aspectos generales	23
5.2 Muestreo	25
5.3 Extracción y preparación de la muestra	26
5.4 Análisis de los cannabinoides sintéticos	27
5.4.1 Ensayos presuntivos	27
5.4.2 Cromatografía en capa delgada (CCD)	27
5.4.3 Espectrometría de movilidad iónica (EMI)	32
5.4.4 Cromatografía en fase gaseosa-espectrometría de masas (CG-EM)	35
5.4.5 Cromatografía en fase gaseosa (CG) con detectores de ionización de llama (CG-FID)	37
5.4.6 Cromatografía en fase líquida de ultraalto rendimiento (CLUAR)	40
5.4.7 Cromatografía en fase líquida-espectrometría de masas en tándem (CL-EM/EM)	44

	<i>Página</i>
6. Otras técnicas analíticas aplicables a los cannabinoides sintéticos	51
6.1 Espectroscopia infrarroja (ATR-IR y EITF)	51
6.2 Cromatografía en fase gaseosa con detección por rayos infrarrojos (CG-IRD)	51
6.3 Espectrometría de masas con ionización en condiciones ambientales	52
6.4 Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR)	52
6.5 Espectrometría de masas con ionización y desorción por láser asistida por matriz-tiempo de vuelo (EM-MALDI-TOF)	52
6.6 Espectroscopia por resonancia magnética nuclear (RMN)	53
7. Aislamiento y caracterización química de nuevos cannabinoides sintéticos	55
8. Referencias bibliográficas	59

1. Introducción

1.1 Antecedentes

En 2008 se detectaron varios agonistas de los receptores de cannabinoides sintéticos (denominados en adelante “cannabinoides sintéticos”) en mezclas de hierbas para fumar que se vendían por Internet y en tiendas especializadas con distintos nombres comerciales, tales como ‘Spice Silver’, ‘Spice Gold’, ‘Spice Diamond’, ‘Yucatan Fire’ y ‘Smoke’ [1, 2]. Estos coloridos paquetes de productos a base de hierbas, diseñados profesionalmente, contienen normalmente entre 0,5 y 3 gramos de materia vegetal finamente picada, a los que se han añadido uno o varios cannabinoides sintéticos [3, 4]. Por lo general no contienen cannabis, pero producen efectos parecidos a los de este. Además, se suelen consumir fumándolos, ya sea en forma de cigarrillo o con una pipa de agua.

Antes de 2008, el consumo de estos productos a base de hierbas parecía estar restringido a un pequeño número de usuarios experimentales. Sin embargo, en 2008 esos productos se volvieron enormemente populares en Alemania y otros países europeos, gracias a Internet y a los subsiguientes informes de los medios de comunicación en que se los describía como “alternativas legales” al cannabis, promoviendo así inadvertidamente el uso de estas drogas. Desde entonces se han comercializado cientos de nuevos productos a base de hierbas, con diferentes nombres comerciales. Los aditivos sintéticos de estos productos pueden variar considerablemente en cuanto a su cantidad y a los tipos de cannabinoides sintéticos utilizados [2, 3, 5 a 19].

Aunque hasta ahora se sabe relativamente poco de la farmacología y toxicología de los diversos cannabinoides sintéticos, en constante evolución, que se añaden a los productos a base de hierbas, varias de estas sustancias pueden tener un potencial adictivo superior al del cannabis, debido a la mayor rapidez con que se desarrolla la tolerancia a ellas, y podrían presentar una mayor toxicidad aguda y a largo plazo.

Actualmente, ninguno de los cannabinoides sintéticos que se encuentran en esos productos a base de hierbas está sujeto a fiscalización internacional en virtud de la Convención Única de 1961 sobre Estupefacientes o del Convenio sobre Sustancias Sicotrópicas de 1971. Además, la situación relativa a la fiscalización de estos compuestos difiere considerablemente de un país a otro. La mayoría de los países se ven sobrepasados por el gran número de nuevos cannabinoides sintéticos que surgen

constantemente, lo que permite eludir con facilidad las medidas de fiscalización dirigidas a compuestos específicos. A la fecha de publicación del presente *Manual*, algunos Estados Miembros, por ejemplo, el Reino Unido, Irlanda, Austria, Suiza y Luxemburgo, habían adoptado un enfoque más genérico para fiscalizar los cannabinoides sintéticos de estructuras semejantes. Con todo, la aplicación efectiva de las medidas de fiscalización podría verse obstaculizada por la falta de datos analíticos y patrones de referencia.

1.2 Finalidad y uso del *Manual*

El presente *Manual* forma parte de una serie de publicaciones similares que tratan de la identificación y el análisis de diversas clases de drogas sometidas a fiscalización. Estos manuales son el resultado de un programa llevado a cabo por la UNODC desde el comienzo del decenio de 1980 con el fin de armonizar y establecer los métodos recomendados de análisis para uso de los laboratorios nacionales de análisis de drogas.

De conformidad con el objetivo general de la serie, en este *Manual* se presentan técnicas que pueden ayudar a los analistas de drogas a escoger los métodos apropiados para la muestra objeto de examen y proporcionar datos adecuados al fin que se persigue, dejando también un margen para la adaptación al grado de sofisticación de los diferentes laboratorios y a los distintos requisitos legales. La mayoría de los métodos presentados en este *Manual* son métodos validados, que se han utilizado en laboratorios de renombre. No obstante, el lector debe tener presente que existen otros métodos, como los descritos en las publicaciones de la ciencia forense, que también pueden producir resultados aceptables. **Todo nuevo método que se vaya a utilizar en un laboratorio deberá validarse y/o verificarse antes de que comience a utilizarse de modo habitual.**

Existen también varios enfoques más complejos, pero estos pueden no ser necesarios en las aplicaciones operacionales de rutina. Por consiguiente, los métodos que aquí se describen deben entenderse como una orientación, y las ligeras modificaciones que se efectúen para ajustarlos a las circunstancias locales no deberán menoscabar normalmente la validez de los resultados. La elección de la metodología y el enfoque del análisis, así como la decisión de si se requieren o no métodos adicionales, competen al analista y pueden depender también de la disponibilidad de instrumentación adecuada y del grado de validez legal aceptable como prueba en la jurisdicción en que el analista realice su labor.

Se subraya asimismo la importancia capital de que los analistas de drogas dispongan de materiales de referencia y documentación sobre las drogas que son objeto de uso indebido y las técnicas analíticas. Además, el analista debe mantenerse siempre al corriente de las tendencias en el análisis de drogas, consultando asiduamente las publicaciones actualizadas sobre ciencia forense y analítica.

La Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos de la UNODC agradecerá toda observación que se le haga llegar en relación con el contenido y la utilidad del presente *Manual*. Los comentarios y sugerencias pueden dirigirse a:

Sección de Laboratorio y Asuntos Científicos
Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito
Centro Internacional de Viena
Apartado postal 500
1400 Viena
Austria

Fax: (+43-1) 26060-5967
Correo electrónico: Lab@unodc.org

Todos los manuales, así como las directrices y otras publicaciones científico-técnicas, pueden solicitarse a la dirección de contacto arriba indicada.

2. Aspectos generales

2.1 Definición de los cannabinoides sintéticos

Los cannabinoides sintéticos son sustancias con características estructurales que les permiten acoplarse a uno de los receptores de cannabinoides conocidos, es decir, el CB₁ o el CB₂, presentes en las células humanas. El receptor CB₁ se encuentra principalmente en el cerebro y la médula espinal, y es responsable de los efectos fisiológicos típicos, en particular los efectos sicotrópicos del cannabis, mientras que el receptor CB₂ se encuentra sobre todo en el bazo y las células del sistema inmunitario y puede mediar efectos de inmunomodulación.

Con excepción de los endocannabinoides, los únicos cannabinoides naturales son los componentes químicos del cannabis, tales como el Δ^9 -tetrahidrocannabinol y el cannabidiol. En cambio, los cannabinoides sintéticos, tal como se definen en el párrafo anterior, podrían comprender una gran variedad de compuestos estructuralmente diferentes, en los que es posible efectuar nuevos cambios estructurales, creando análogos y derivados, que también podrían presentar afinidad con uno de los dos receptores de cannabinoides.

El acoplamiento de los cannabinoides sintéticos con los receptores de cannabinoides puede producir efectos agonistas (parciales), agonistas inversos o antagonistas. Los cannabinoides sintéticos de interés en el contexto de la ciencia forense son principalmente los compuestos que presentan suficiente afinidad con el receptor CB₁, junto con actividad agonista o agonista parcial, ya que los efectos sicotrópicos típicos del cannabis están mediados normalmente por una estimulación agonista de este tipo de receptor.

2.2 Clasificación química

Los agonistas de los receptores de cannabinoides pueden clasificarse con arreglo a su estructura química en los siguientes grupos principales [20]:

1. *Cannabinoides clásicos*

Tetrahidrocannabinol, otros componentes químicos del cannabis y sus análogos sintéticos estructuralmente relacionados, por ejemplo, AM-411, AM-906, HU-210, O-1184

2. *Cannabinoides no clásicos*

Ciclohexilfenoles o 3-arilciclohexanoles, por ejemplo, CP-55.244, CP-55.940, CP-47.497 (y los homólogos C6 a 9)

3. *Cannabinoides híbridos*

Combinaciones de las características estructurales de los cannabinoides clásicos y no clásicos, por ejemplo, AM-4030

4. *Aminoalquilindoles*, que a su vez pueden subdividirse en los siguientes grupos:

- a) Naftoilindoles (por ejemplo, JWH-015, JWH-018, JWH-073, JWH-081, JWH-122, JWH-200, JWH-210, JWH-398)
- b) Fenilacetilindoles (por ejemplo, JWH-250, JWH-251)
- c) Benzoilindoles (por ejemplo, pravadolina, AM-694, RSC-4)
- d) Naftilmetilindoles (por ejemplo, JWH-184)
- e) Ciclopropoilindoles (por ejemplo, UR-144, XLR-11)
- f) Adamantoilindoles (por ejemplo, AB-001, AM-1248)
- g) Carboxamidas de indoles (por ejemplo, APICA, STS-135)

5. *Eicosanoides*

Endocannabinoides tales como la anandamida (AEA), y sus análogos sintéticos, por ejemplo, la metanandamida (AM-356)

6. *Otros*

Otros tipos estructurales tales como los diarilpirazoles (por ejemplo, Rimona-bant®), los naftoilpirroles (por ejemplo, JWH-307 [21, 22]), los naftilmetilindenos (por ejemplo, JWH-176) y las carboxamidas de indazoles (por ejemplo, APINACA [23]).

Muchos derivados y análogos de estas categorías de compuestos podrían sintetizarse añadiendo un grupo halógeno, alquilo o alcoxi u otros sustituyentes a uno de los sistemas de anillos aromáticos. También pueden introducirse otras modificaciones menores, como la variación de la longitud y configuración de la cadena de alquilo. Los aminoalquilindoles son con mucho la clase de cannabinoides sintéticos que con mayor frecuencia se encuentra en los productos a base de hierbas, ya que son más fáciles de sintetizar que las otras clases de compuestos.

2.3 Productos y modos de administración

Algunos cannabinoides sintéticos, tales como CP-55.940 o WIN-55.212-2, estaban disponibles en el mercado como productos químicos para la investigación en pequeñas cantidades desde mucho antes de que esos compuestos aparecieran en

productos “listos para fumar”. Se empleaban casi exclusivamente en la investigación farmacológica.

Alrededor de 2004 aparecieron los primeros productos con cannabinoides sintéticos. Estos se añaden a la materia vegetal, por ejemplo las hojas machacadas o en tiras, impregnándola o pulverizándola con una solución de uno o varios cannabinoides sintéticos en un disolvente orgánico que luego se deja evaporar. En algunos casos se utilizan cannabinoides sintéticos en forma sólida (polvo cristalino), lo que da lugar a una distribución no homogénea del compuesto activo en la materia vegetal. Una pequeña parte de esos productos presentan similitudes de color y textura con el hachís. Se emplean de manera parecida a este, es decir, mezclándolos con tabaco en un cigarrillo o fumándolos puros en una pipa.

En los últimos años, un creciente número de tiendas y comerciantes en línea han comenzado a ofrecer cannabinoides sintéticos como “sustancias químicas para la investigación” en cantidades que varían desde miligramos hasta kilogramos. Los compradores de estas sustancias no son solo los grandes fabricantes de productos a base de hierbas, sino también los usuarios finales que desean preparar sus propias combinaciones de mezclas de hierbas. Algunas de esas sustancias son de gran pureza [24], mientras que otras están contaminadas con subproductos o artefactos sintéticos debido al nivel insuficiente de limpieza [18].

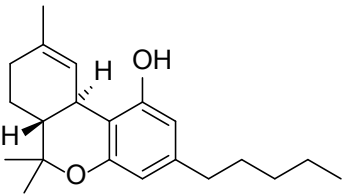
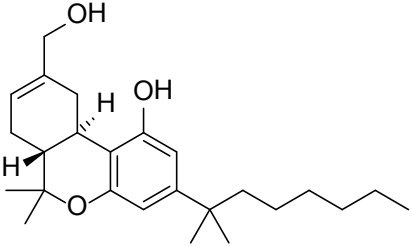
Aparte de su consumo en cigarrillos o pipas, hay pocos informes del consumo oral de estos productos a base de hierbas con cannabinoides sintéticos junto con alimentos o preparados en forma de té. Otras vías de administración, como la inyección intravenosa o la inhalación, no parecen desempeñar un papel importante.

3. Descripción de los compuestos puros

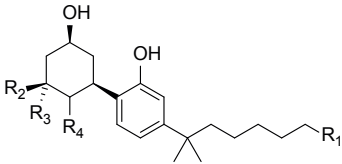
Los compuestos puros son en su mayoría polvos cristalinos finos, con colores que van desde el blanco hasta tonalidades grises, marrones o amarillentas. La mayor parte son sumamente lipofílicos y presentan una buena solubilidad en disolventes de baja polaridad (por ejemplo, el isooctano), así como en metanol, etanol, acetonitrilo, acetato de etilo, acetona y otros disolventes orgánicos de polaridad media. Por lo general, la solubilidad en agua de los cannabinoides sintéticos que se utilizan en los productos a base de hierbas es baja.

La siguiente es una lista de los compuestos activos que se han encontrado ya sea en productos a base de hierbas o en polvos a granel incautados, con arreglo a las clases definidas en la sección 2.2.

3.1 Cannabinoides clásicos

 THC  HU-210			
Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
THC Sinónimo: Δ9-Tetrahydrocannabinol	(6aR,10aR)-6a,7,8,10a-tetrahidro-6,6,9-trimetil-3-pentil-6H-dibenzo[b,d]pirano-1-ol	1972-08-3	C ₂₁ H ₃₀ O ₂
HU-210 Sinónimo: 11-Hidroxi-Δ8-THC-DMH	(6aR,10aR)-6a,7,10,10a-tetrahidro-6,6-dimetil-9-(hidroximetil)-3-(2-metiloctano-2-il)-6H-dibenzo[b,d]pirano-1-ol	112830-95-2	C ₂₅ H ₃₈ O ₃

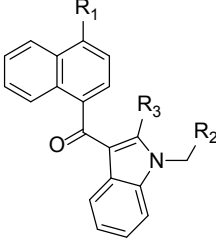
3.2 Cannabinoides no clásicos

 CP-47.497 ($R_2=R_3=R_4=H$, $R_1=\text{metilo}$) CP-47.497-C6 ($R_1=R_2=R_3=R_4=H$) CP-47.497-C8 ($R_2=R_3=R_4=H$, $R_1=\text{etilo}$) CP-47.497-C9 ($R_2=R_3=R_4=H$, $R_1=\text{propilo}$) CP-55.940 ($R_2=R_3=H$, $R_1=CH_3$, $R_4=3\text{-hidroxipropilo}$) Dimetil CP-47.497-C8 ($R_2=R_3=CH_3$, $R_4=H$, $R_1=\text{etilo}$)			
Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
CP-47.497	<i>rel</i> -2-[(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-3-hidroxiciclohexil]-5-(2-metiloctano-2-il)fenol	70434-82-1	C ₂₁ H ₃₄ O ₂
CP-47.497-C6	<i>rel</i> -2-[(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-3-hidroxiciclohexil]-5-(2-metilheptano-2-il)fenol	No disponible	C ₂₀ H ₃₂ O ₂
CP-47.497-C8 <i>Sinónimo:</i> Cannabiciclohexanol	<i>rel</i> -2-[(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-3-hidroxiciclohexil]-5-(2-metilnonano-2-il)fenol	70434-92-3	C ₂₂ H ₃₆ O ₂
CP-47.497-C9	<i>rel</i> -2-[(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-3-hidroxiciclohexil]-5-(2-metildecano-2-il)fenol	No disponible	C ₂₃ H ₃₈ O ₂
CP-55.940	<i>rel</i> -2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,5 <i>R</i>)-5-hidroxi-2-(3-hidroxipropil)ciclohexil]-5-(2-metil-octano-2-il)fenol	83003-12-7	C ₂₄ H ₄₀ O ₃
Dimetil CP-47.497-C8	<i>rel</i> -2-[(1 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-3-hidroxi-5,5-dimetilciclohexil]-5-(2-metil-nonano-2-il)fenol	No disponible	C ₂₄ H ₄₀ O ₂

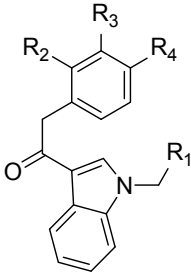
3.3 Cannabinoides híbridos

Hasta la fecha no ha habido incautaciones de compuestos de esta categoría.

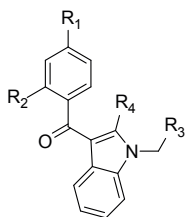
3.4 Aminoalquilindoles

a) Naftoilindoles			
		$R_1=R_3=H$ AM-1220 ($R_2=1\text{-metilpiperidin-2-il}$) AM-2201 ($R_2=4\text{-fluorobutilo}$) AM-2232 ($R_2=\text{butanonitrilo}$) JWH-018 ($R_2=\text{butilo}$) JWH-019 ($R_2=\text{pentilo}$) JWH-020 ($R_2=\text{hexilo}$) JWH-022 ($R_2=3\text{-buten-1-il}$) JWH-072 ($R_2=\text{etilo}$) JWH-073 ($R_2=\text{propilo}$) JWH-200 ($R_2=4\text{-morfolinilmetilo}$) JWH-007 ($R_1=H, R_2=\text{butilo}, R_3=\text{metilo}$) JWH-015 ($R_1=H, R_2=\text{etilo}, R_3=\text{metilo}$) JWH-073 4-metilnaftilo ($R_1=\text{metilo}, R_2=\text{propilo}, R_3=H$) MAM-2201 ($R_1=\text{metilo}, R_2=4\text{-fluorobutilo}, R_3=H$)	
$R_2=\text{butilo}, R_3=H$ JWH-081 ($R_1=\text{metoxi}$) JWH-122 ($R_1=\text{metilo}$) JWH-210 ($R_1=\text{etilo}$) JWH-387 ($R_1=Br$) JWH-398 ($R_1=Cl$) JWH-412 ($R_1=F$)			
Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
AM-1220	(naftalen-1-il)[1-[(1-metilpiperidin-2-il)metil]-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	137642-54-7	$C_{26}H_{26}N_2O$
AM-1220 isómero con azepano	(naftalen-1-il)[1-(1-metilazepan-3-il)-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	No disponible	$C_{26}H_{26}N_2O$
AM-2201	(naftalen-1-il)[1-(5-fluoropentil)-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	335161-24-5	$C_{24}H_{22}FNO$
AM-2232	5-(3-(1-naftoil)-1 <i>H</i> -indol-1-il)pentanonitrilo	335161-19-8	$C_{24}H_{20}N_2O$
JWH-007	(naftalen-1-il)(2-metil-1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	155471-10-6	$C_{25}H_{25}NO$
JWH-015	(naftalen-1-il)(2-metil-1-propil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	155471-08-2	$C_{23}H_{21}NO$
JWH-018 <i>Sinónimo:</i> AM678	(naftalen-1-il)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	209414-07-3	$C_{24}H_{23}NO$
JWH-019	(naftalen-1-il)(1-hexil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	209414-08-4	$C_{25}H_{25}NO$
JWH-020	(naftalen-1-il)(1-heptil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	209414-09-5	$C_{26}H_{27}NO$

<i>Nombre</i>	<i>Nombre químico</i>	<i>Núm. CAS</i>	<i>Fórmula molecular</i>
JWH-022	(naftalen-1-il)[1-(pent-4-en-1-il)-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	209414-16-4	C ₂₄ H ₂₁ NO
JWH-072	(naftalen-1-il)(1-propil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	209414-06-2	C ₂₂ H ₁₉ NO
JWH-073	(naftalen-1-il)(1-butil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	208987-48-8	C ₂₃ H ₂₁ NO
JWH-073 (4-metilnaftilo) <i>Sinónimo:</i> Análogo N-butilo de JWH-122	(4-metilnaftalen-1-il)(1-butil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	1354631-21-2	C ₂₄ H ₂₃ NO
JWH-081	(4-metoxinaftalen-1-il)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	210179-46-7	C ₂₅ H ₂₅ NO ₂
JWH-122 [5]	(4-metilnaftalen-1-il)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	619294-47-2	C ₂₅ H ₂₅ NO
JWH-200 <i>Sinónimo:</i> WIN 55.225	(naftalen-1-il)[1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	103610-04-4	C ₂₅ H ₂₄ N ₂ O ₂
JWH-210	(4-etilnaftalen-1-il)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	824959-81-1	C ₂₆ H ₂₇ NO
JWH-387	(4-bromonaftalen-1-il)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	207227-49-4	C ₂₄ H ₂₂ BrNO
JWH-398	(4-cloronaftalen-1-il)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	1292765-18-4	C ₂₄ H ₂₂ ClNO
JWH-412	(4-fluoronaftalen-1-il)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	1364933-59-4	C ₂₄ H ₂₂ FNO
MAM-2201 <i>Sinónimos:</i> JWH-122 (5-fluoropentilo); Análogo 4-metilnaftilo de AM-2201	(4-metilnaftalen-1-il)[1-(5-fluoropentil)-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	1354631-24-5	C ₂₅ H ₂₄ FNO

b) Fenilacetilindoles  R₃=R₄=H Cannabipiperidietanona (R₁=1-metilpiperidin-2-ilo, R₂=metoxi) JWH-203 (R₁=butilo, R₂=Cl) JWH-250 (R₁=butilo, R₂=metoxi) JWH-251 (R₁=butilo, R₂=metilo) RCS-8 (R₁=ciclohexilmetilo, R₂=metoxi) R₁=butilo, R₂=H JWH-201 (R₃=H, R₄=metoxi) JWH-302 (R₃=metoxi, R₄=H)			
Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
Cannabipiperidietanona <i>Sinónimo:</i> Derivado de JWH-250 1-(2-metileno- <i>N</i> -metil-piperidil)	2-(2-metoxifenil)-1-[1-[(1-metilpiperidin-2-il)metil]-1 <i>H</i> -indol-3-il]etanona	1345970-43-5	C ₂₄ H ₂₈ N ₂ O ₂
JWH-201 <i>Sinónimo:</i> para-JWH-250	2-(4-metoxifenil)-1-(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)etanona	864445-47-6	C ₂₂ H ₂₅ NO ₂
JWH-203	2-(2-clorofenil)-1-(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)etanona	864445-54-5	C ₂₁ H ₂₂ ClNO
JWH-250	2-(2-metoxifenil)-1-(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)etanona	864445-43-2	C ₂₂ H ₂₅ NO ₂
JWH-251	2-(2-metilfenil)-1-(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)etanona	864445-39-6	C ₂₂ H ₂₅ NO
JWH-302 <i>Sinónimo:</i> meta-JWH-250	2-(3-metoxifenil)-1-(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)etanona	864445-45-4	C ₂₂ H ₂₅ NO ₂
RCS-8 <i>Sinónimos:</i> SR-18; BTM-8	2-(2-metoxifenil)-1-(1-(2-ciclohexiletil)-1 <i>H</i> -indol-3-il)etanona	1345970-42-4	C ₂₅ H ₂₉ NO ₂

c) Benzoilindoles



AM-694 ($R_1=R_4=H$, $R_2=I$, $R_3=4$ -fluorobutilo)

Derivado de cloro de AM-694 ($R_1=R_4=H$, $R_2=I$, $R_3=4$ -clorobutilo)

AM-2233 ($R_1=R_4=H$, $R_2=I$, $R_3=1$ -metilpiperidin-2-ilo)

RCS-4 ($R_1=$ metoxi, $R_2=R_4=H$, $R_3=$ butilo)

Ortoisómero de RCS-4 ($R_1=R_4=H$, $R_2=$ metoxi, $R_3=$ butilo)

Homólogo butilo de RCS-4 ($R_1=$ metoxi, $R_2=R_4=H$, $R_3=$ propilo)

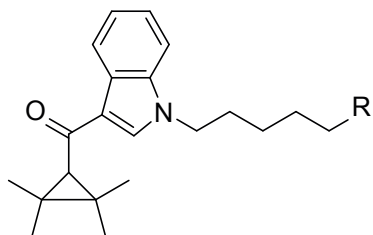
WIN 48.098 ($R_1=$ metoxi, $R_2=H$, $R_3=4$ -morfolinilmetilo, $R_4=$ metilo)

Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
AM-694	(2-yodofenil)[1-(5-fluoropentil)-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	335161-03-0	$C_{20}H_{19}FINO$
AM-694 (derivado clorado)	(2-yodofenil)[1-(5-cloropentil)-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	No disponible	$C_{20}H_{19}ClINO$
AM-2233	(2-yodofenil)[1-[(1-metilpiperidin-2-il)metil]-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	444912-75-8	$C_{22}H_{23}IN_2O$
RCS-4 <i>Sinónimos:</i> SR-19; OBT-199; BTM-4; E-4	(4-metoxifenil)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	1345966-78-0	$C_{21}H_{23}NO_2$
Ortoisómero de RCS-4 <i>Sinónimo:</i> Isómero 2-metoxi de RCS-4	(2-metoxifenil)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	No disponible	$C_{21}H_{23}NO_2$
Homólogo butilo de RCS-4	(4-metoxifenil)(1-butil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	No disponible	$C_{20}H_{21}NO_2$
WIN 48.098 <i>Sinónimo:</i> Pravadolina	(4-metoxifenil)[(2-metil)-1-[2-(morfolin-4-il)etil]-1 <i>H</i> -indol-3-il]metanona	92623-83-1	$C_{23}H_{26}N_2O_3$

d) Naftilmetilindoles

Hasta la fecha no ha habido incautaciones de compuestos de esta categoría.

e) Ciclopropoilindoles



R=H

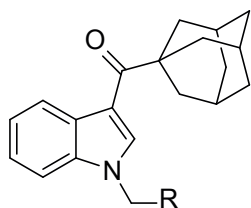
UR-144

R=F

XLR-11

Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
UR-144 <i>Sinónimo:</i> KM-X1	(2,2,3,3-tetrametilciclopropil) (1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il)metanona	1199943-44-6	C ₂₁ H ₂₉ NO
XLR-11 <i>Sinónimos:</i> 5-FUR-144, 5-fluoro UR-144	(2,2,3,3-tetrametilciclopropil) (1-(5-fluoropentil)-1 <i>H</i> -indol-3-il) metanona	1364933-54-9	C ₂₁ H ₂₈ FNO

f) Adamantoilindoles



R=butilo

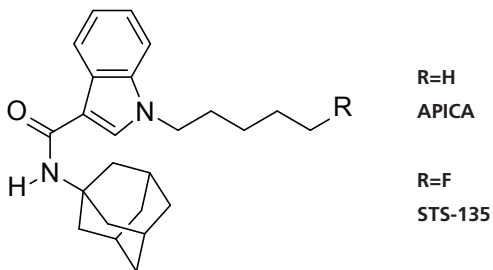
AB-001

R=1-metilpiperidin-2-ilo

AM-1248

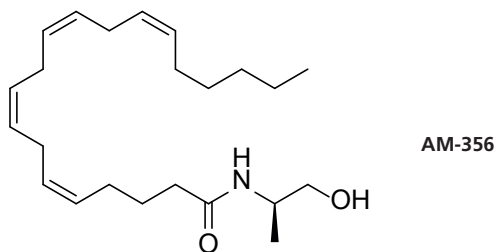
Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
AB-001 <i>Sinónimo:</i> JWH-018 (adamantilo)	(1-adamantil)(1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-il) metanona	1345973-49-0	C ₂₄ H ₃₁ NO
AM-1248	(1-adamantil)[1-[(1-metilpiperidin-2-il)metil]-1 <i>H</i> -indol-3-il]methanona	335160-66-2	C ₂₆ H ₃₄ N ₂ O

g) Carboxamidas de indoles



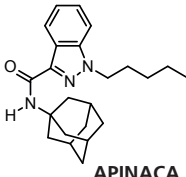
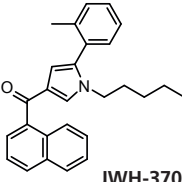
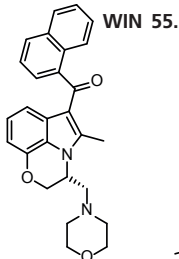
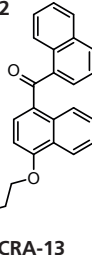
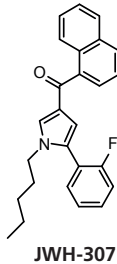
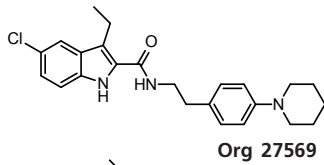
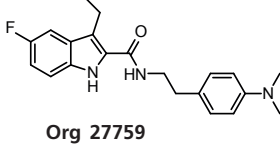
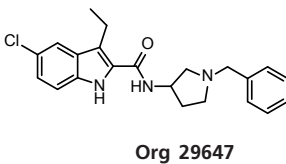
Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
APICA <i>Sinónimos:</i> 2NE1; JWH-018 adamantil carboxamida	<i>N</i> -(1-adamantil)-1-pentil-1 <i>H</i> -indol-3-carboxamida	1345973-50-3	C ₂₄ H ₃₂ N ₂ O
STS-135 <i>Sinónimo:</i> 5-fluoro APICA	<i>N</i> -(1-adamantil)-1-(5-fluoropentil)-1 <i>H</i> -indol-3-carboxamida	1354631-26-7	C ₂₄ H ₃₁ FN ₂ O

3.5 Eicosanoides



Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
AM-356 <i>Sinónimo:</i> Metanandamida	<i>N</i> -(2-hidroxi-1 <i>R</i> -metiletil)-5 <i>Z</i> ,8 <i>Z</i> ,11 <i>Z</i> ,14 <i>Z</i> -eicosatetraenamida	157182-49-5	C ₂₃ H ₃₉ NO ₂

3.6 Otros

 APINACA	 JWH-370	 WIN 55.212-2	 CRA-13
 JWH-307	 Org 27569	 Org 27759	 Org 29647

Nombre	Nombre químico	Núm. CAS	Fórmula molecular
APINACA <i>Sinónimo:</i> AKB48	<i>N</i> -(1-adamantil)-1-pentil-1 <i>H</i> -indazole-3-carboxamida	1345973-53-6	C ₂₃ H ₃₁ N ₃ O
CRA-13 <i>Sinónimos:</i> CB-13; SAB-378	(naftalen-1-il)(4-pentiloxinaftalen-1-il)metanona	432047-72-8	C ₂₆ H ₂₄ O ₂
JWH-307	(naftalen-1-il)(5-(2-fluorofenil)-1-pentil-1 <i>H</i> -pirrol-3-il)metanona	914458-26-7	C ₂₆ H ₂₄ FNO
JWH-370	(naftalen-1-il)[5-(2-metilfenil)-1-pentil-1 <i>H</i> -pirrol-3-il]metanona	914458-22-3	C ₂₇ H ₂₇ NO
Org 27569	ácido 5-cloro-3-etil-1 <i>H</i> -indol-2-carboxílico [2-(4-piperidin-1-ilfenil)etil]amida	868273-06-7	C ₂₄ H ₂₈ ClN ₃ O
Org 27759	ácido 5-fluoro-3-etil-1 <i>H</i> -indol-2-carboxílico [2-(4-dimetilaminofenil)etil]amida	868273-09-0	C ₂₁ H ₂₄ FN ₃ O
Org 29647	ácido 5-cloro-3-etil-1 <i>H</i> -indol-2-carboxílico (1-benzilpirrolidin-3-il)amida	No disponible	C ₂₂ H ₂₄ ClN ₃ O
WIN-55.212-2	(naftalen-1-il)[(3 <i>R</i>)-2,3-dihidro-5-metil-3-(4-morfolinilmetil)pirrolo[1,2,3-de]-1,4-benzoxazin-6-il]metanona	131543-23-2	C ₂₇ H ₂₆ N ₂ O ₃

4. Producción y desviación

4.1 Síntesis de compuestos puros

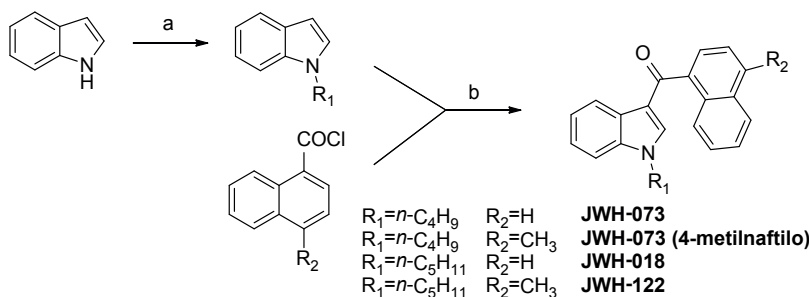
Los aminoalquilindoles son, con diferencia, los compuestos que con más frecuencia se encuentran en los productos a base de hierbas a los que se han añadido cannabinoides sintéticos. Ello se debe a que las síntesis de los aminoalquilindoles son menos complejas y difíciles que las de los cannabinoides clásicos, no clásicos o híbridos. En general, los aminoalquilindoles pueden sintetizarse sin necesidad de equipo de laboratorio sofisticado, con reactivos y productos químicos baratos. Sin embargo, hay algunas excepciones en que los compuestos contienen sustituyentes poco comunes, como los derivados con adamantilo tetrametilciclopropilo y metilo de la piperidina, que pueden ser más difíciles de sintetizar y purificar.

Los precursores de uso común en la síntesis de los aminoalquilindoles, que suele llevarse a cabo por acilación de Friedel-Crafts en C3, seguida de N-alquilación de un indol (sustituido), o viceversa, son:

1. Los 1-alquilindoles y 1-alkil-2-metilindoles (alquilo: butilo, pentilo, hexilo u otros, halogenados si es el caso)
2. Los 1-naftoilcloruros (por ejemplo, sustituidos en C4)

A continuación figura un ejemplo de un método de síntesis de los naftoilindoles tales como JWH-073, JWH-073 (4-metilnaftilo), JWH-018 y JWH-122 [25].

Figura I. Ejemplo de un método de síntesis de algunos naftoilindoles



^a Tert-butoxuro potásico, butilyoduro o pentilbromuro, THF, RT.

^b AlCl₃, DCM, 0 °C.

Para los ciclohexilfenoles del tipo del CP-47.497 se necesitan precursores tales como (3-(benciloxi)fenil)acetonitrilo y ciclohex-2-en-1-ona, que son fáciles de obtener. Cabe señalar que existen también otros métodos de síntesis.

4.2 Producción de preparados a base de hierbas

Aunque los cannabinoides sintéticos pueden administrarse en general como sustancias puras, los productos finales están diseñados normalmente para ser fumados. La mayoría de esos productos finales se fabrican con hierbas a las que se han añadido uno o varios cannabinoides sintéticos y aromatizantes naturales o artificiales.

La mezcla de la materia vegetal con cannabinoides sintéticos puede realizarse colocando la materia vegetal en una mezcladora de cemento y añadiendo una solución de cannabinoides sintéticos en un disolvente orgánico (por ejemplo, acetona) para impregnar la materia. Después del secado, los cannabinoides se encuentran distribuidos de manera más o menos uniforme sobre la materia vegetal. En muchos casos pueden detectarse trazas de cannabinoides sintéticos distintos de los compuestos principales en los productos finales. Ello podría deberse a que el recipiente en que se efectúa la mezcla no se ha limpiado a fondo después de cada ciclo de producción, lo que ha causado contaminación cruzada. A veces se observa un polvo cristalino en el fondo de los paquetes, posiblemente debido a que la materia vegetal se ha mezclado simplemente con la droga en polvo, obteniéndose una mezcla no homogénea de los compuestos activos y la materia vegetal.

4.3 Precursores y fuentes

Algunos de los cannabinoides sintéticos presentes en estos productos pueden adquirirse de empresas químicas especializadas, pero los precios de estas sustancias químicas de alta pureza pueden ser demasiado altos para su uso en preparados de hierbas. Sin embargo, numerosas empresas, buena parte de ellas situadas en Asia, aunque también se han señalado fuentes en Europa, ofrecen alternativas más baratas.

Estos compuestos no son, en general, de calidad farmacéutica, y con frecuencia están contaminados con subproductos y derivados sintéticos debido a la ineficiencia de los procesos de síntesis [26]. Sin embargo, algunas incautaciones de cantidades que se miden en kilogramos han resultado ser de gran pureza, aunque también los materiales incautados en cantidades más pequeñas pueden ser muy puros [24]. Para engañar a las autoridades aduaneras, esos productos se envían normalmente con declaraciones falsas, por ejemplo, como ‘polifosfato’, ‘ácido maleico’, ‘agente blanqueador fluorescente’, ‘etilvainillina’, ‘algodón’, ‘muestras de papel’, ‘TiO₂’ (dióxido de titanio) o ‘producto de limpieza para acuarios’.

4.4 Materiales incautados típicos

La mayor parte de los productos incautados consisten en mezclas listas para fumar de materia vegetal a la que se han añadido cannabinoides sintéticos. Esos productos contienen con frecuencia más de un compuesto activo, pudiendo haber hasta seis en un mismo producto. Les siguen los productos incautados que contienen sustancias puras en forma de polvo, destinadas normalmente a la producción en gran escala de preparados de hierbas o a los usuarios finales que desean preparar sus propias combinaciones de mezclas de hierbas. Los productos de aspecto parecido al hachís son menos frecuentes.

4.5 Agentes adulterantes/enmascarantes

En la primera generación de productos a base de hierbas era frecuente encontrar adulterantes tales como los tocoferoles o las oleamidas [1]. No está claro si se añadían para enmascarar los ingredientes activos o como conservantes. El tocoferol es un antioxidante y se encontraba principalmente en productos que contenían CP-47.497-C8. La oleamida, por su parte, produce respuestas de comportamiento parecidas a las del cannabis, y pueda haberse añadido para modificar los efectos psicotrópicos. Estos aditivos ya no se encuentran en los productos actuales. Sin embargo, muchos productos aún contienen aromatizantes naturales o artificiales tales como etilvainillina, eugenol u otros terpenoides [27]. Es poco probable que estos compuestos tengan un efecto importante en la actividad farmacológica de los productos.

5. Análisis cualitativo y cuantitativo de los materiales que contienen cannabinoides sintéticos

Por lo general, cuando se intenta establecer la identidad de una droga sometida a fiscalización en un material sospechoso, el enfoque analítico debe conllevar la determinación de al menos dos parámetros no correlacionados, uno de los cuales debe proporcionar información sobre la estructura química del analito (por ejemplo, rayos infrarrojos, espectrometría de masas (EM), o métodos acoplados tales como la cromatografía en fase gaseosa-espectrometría de masas (CG-EM)).

Es un hecho reconocido que la selección de esos parámetros en cada caso particular debe basarse en la droga de que se trate y los recursos de laboratorio de que disponga el analista. También se acepta que los requisitos propios de las diferentes jurisdicciones pueden dictar las prácticas que se apliquen efectivamente en un laboratorio determinado.

5.1 Aspectos generales

Dado que los cannabinoides sintéticos se utilizan a menudo como aditivos de mezclas de hierbas, la estrategia de análisis es diferente, en cierta medida, de la que se aplica a las drogas de hierba clásicas, como el cannabis, o a las drogas en otras formas, como la heroína, la cocaína y los estimulantes de tipo anfetamínico. A continuación se resumen algunos aspectos importantes del análisis que deben tomarse en consideración.

Cuadro 1. Aspectos importantes del análisis que se deben tomar en consideración

Aspectos analíticos	Consideraciones
Muestreo	• Los productos a base de hierbas podrían agruparse con arreglo a las marcas comerciales y a su embalaje o envase para el muestreo. Sin embargo, dentro un mismo grupo puede haber contenidos diferentes • Los paquetes o envases tendrían que abrirse para la inspección visual de la materia vegetal

Cuadro 1. Aspectos importantes del análisis que se deben tomar en consideración (continuación)

Aspectos analíticos	Consideraciones
Homogeneidad	• La distribución puede no ser homogénea, según el método que se haya empleado para aplicar los cannabinoides sintéticos a la materia vegetal • Para el análisis cuantitativo se requiere una homogeneización o estrategia de muestreo eficaz
Extracción	• Para el análisis cromatográfico podrían utilizarse procedimientos de extracción sencillos, ya que las sustancias activas están normalmente adheridas a la superficie del material vegetal • La extracción no es necesaria si se emplean técnicas de espectrometría de movilidad iónica (EMI) o de espectrometría de masas (EM) en condiciones ambientales tales como la espectrometría de masas de análisis directo en tiempo real (EM-DART) y la espectrometría de masas con ionización por desorción con electrospray (EM-DESI)
Sensibilidad	• Se requieren métodos sensibles porque los cannabinoides sintéticos están presentes en concentraciones bajas (normalmente de 1 a 30 mg/g) y puede haber interferencias de la matriz • Los ensayos presuntivos tales como las pruebas colorimétricas no son apropiados
Variedad de cannabinoides sintéticos	• El número y el tipo de sustancias varían considerablemente de una muestra a otra • Las bibliotecas espectrales de referencia deberían actualizarse constantemente para que incluyan la gran variedad de sustancias disponibles • La disponibilidad de muestras de referencia puede ser un problema, ya que no será posible conseguir todos los tipos de cannabinoides sintéticos • Para los casos en que se encuentre un compuesto nuevo y desconocido, en la sección 7 se describe un método general de aislamiento y caracterización química del compuesto nuevo

El análisis cualitativo puede realizarse por cromatografía en capa delgada (CCD), espectrometría de movilidad iónica (EMI), rayos infrarrojos (IR), cromatografía en fase gaseosa (CG) con detector de ionización de llama (CG-FID), CG con detección por rayos infrarrojos (CG-IRD) o CG-EM. La CG-EM puede considerarse el patrón de referencia, ya que no solo ofrece una excelente resolución cromatográfica, sino que también permite, en general, identificar los ingredientes activos por los espectros obtenidos mediante ionización por impacto electrónico y espectrometría de masas (IE-EM). Pero la CG-EM puede tener sus límites en el análisis de los regioisómeros.

Para distinguir estos isómeros estructurales deben efectuarse mediciones adicionales con otras técnicas analíticas (por ejemplo, con rayos infrarrojos o CG-IRD) a fin de identificar de forma inequívoca el regioisómero correcto.

La cromatografía en capa delgada es una técnica barata y rápida que permite procesar un elevado número de muestras y que, por lo tanto, puede servir para reducir considerablemente el número de análisis de CG-EM necesario. Acoplando la CCD con técnicas de espectrometría de masas en condiciones ambientales tales como la EM-DESI, es posible identificar un amplio abanico de analitos. En cuanto a la espectrometría de movilidad iónica, puede considerarse un método de ensayo presuntivo sensible, ya que otros ensayos presuntivos tales como las pruebas colorimétricas y las pruebas microcristalinas no son adecuados para el análisis de productos a base de hierbas.

En el caso de los materiales sólidos que contienen sustancias puras, pueden aplicarse técnicas de IR. Los sistemas portátiles de espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (EITF) también son útiles para un análisis rápido de los materiales incautados sobre el terreno cuando se sospeche que contengan cannabinoides sintéticos puros en polvo. Si la muestra incautada contiene un solo cannabinoide sintético, el compuesto puede identificarse también por IR con extractos de las mezclas de hierbas tras la evaporación del disolvente en la celda de diamante de reflectancia total atenuada (ATR).

Para los análisis cuantitativos pueden utilizarse los métodos de CG-FID, cromatografía en fase líquida (CL) de alto rendimiento (CLAR) (o de ultraalto rendimiento, CLAU) y CL-EM (o CL-EM/EM). Los métodos de cromatografía en fase líquida pueden ser más eficaces que los de cromatografía en fase gaseosa cuando están presentes altas cantidades de derivados de ácidos grasos, que pueden causar interferencias en los métodos de cromatografía en fase gaseosa.

El Grupo de trabajo científico para el análisis de drogas incautadas (SWGDRUG) ha formulado las directrices mínimas recomendadas para la selección de métodos, que están disponibles en línea en el sitio web <http://www.swgdrug.org/>.

5.2 Muestreo

La principal razón por la que se aplica un procedimiento de muestreo es para obtener un análisis químico exacto y útil. Debido a que la mayoría de los métodos cualitativos y cuantitativos utilizados en los laboratorios forenses para el análisis de drogas requieren alícuotas de material muy pequeñas, es de vital importancia que esas pequeñas alícuotas sean representativas de la masa de la que se hayan extraído. El muestreo debe realizarse con arreglo a los principios de la química analítica establecidos, por ejemplo, en las farmacopeas nacionales o por organizaciones internacionales o regionales. Los aspectos generales del muestreo representativo de

drogas con toma de muestras de varias unidades pueden consultarse en el manual sobre las directrices para el muestreo representativo de drogas titulado *Guidelines on Representative Drug Sampling* (http://www.unodc.org/unodc/en/scientists/publications_manuals.html). Cuando se trate de material incautado con características externas claramente diferentes, un método de muestreo basado en el modelo de Bayes puede ser preferible al enfoque hipergeométrico.

La aplicación de un sistema de muestreo aprobado ayuda también a conservar los valiosos recursos y a ahorrar tiempo, al reducir el número de determinaciones que es preciso realizar. Es sabido que hay situaciones en que, por motivos jurídicos, no es posible aplicar las reglas normales del muestreo y la homogeneización.

Para las mezclas de hierbas pueden precisarse estrategias de muestreo modificadas, especialmente en los casos en que una misma incautación contenga una gran variedad de marcas diferentes. Cabe señalar que el contenido de un producto de una marca particular puede también cambiar a lo largo del tiempo. Si la incautación contiene un gran número de productos idénticos o material a granel, pueden emplearse las estrategias de muestreo de uso común.

5.3 Extracción y preparación de la muestra

Análisis cualitativo

Añádase 1 ml de disolventes apolares o de polaridad media tales como metanol, etanol, acetonitrilo, acetato de etilo, acetona o isooctano a una pequeña cantidad de muestra (por ejemplo, 100 mg de materia vegetal o entre 1 y 2 mg de material sólido). Trátase el extracto con ultrasonidos y fíltrese o centrifúguese, si es necesario, antes del análisis.

Análisis cuantitativo

Pulverícese y homogeneícese la materia vegetal o el material sólido antes de tomar las muestras para el análisis. La homogeneización puede realizarse también en un molinillo eléctrico, o en congelación profunda con nitrógeno líquido en un mortero. Debe evitarse la homogeneización de solo una alícuota de la muestra, debido a que los cannabinoides tienden a depositarse en el fondo de la muestra. Deben tomarse por lo menos dos muestras del homogenado, en función de la homogeneidad y la masa del material de origen.

Extráiganse las muestras utilizando disolventes apolares o de polaridad media tales como metanol, etanol, acetonitrilo, acetato de etilo, acetona o isooctano. Trátase la mezcla con ultrasonidos para aumentar la eficacia de la extracción y fíltrese antes del análisis. La eficiencia de la recuperación puede mejorarse aumentando el número de extracciones realizadas. Puede emplearse también la extracción Soxhlet, aunque esta técnica puede ser demasiado compleja para el uso de rutina en los laboratorios forenses.

5.4 Análisis de los cannabinoides sintéticos

5.4.1 Ensayos presuntivos

Los ensayos presuntivos tales como las pruebas colorimétricas y las pruebas microcristalinas no son adecuados debido a las bajas concentraciones de los analitos presentes en las mezclas de hierbas y a las posibles interferencias de la matriz de la muestra. Aunque hay ensayos presuntivos disponibles en el mercado para algunos cannabinoides sintéticos específicos, actualmente no existe ningún ensayo presuntivo que abarque toda la gama de cannabinoides sintéticos.

5.4.2 Cromatografía en capa delgada (CCD)

La CCD es una técnica de uso común para la separación y detección de drogas de fabricación ilícita. Es barata, rápida, flexible en la selección de las fases estacionaria y móvil, y aplicable a una gran variedad de sustancias, en forma de base y de sal, desde los materiales más polares hasta los apolares. Puesto que las placas cromatográficas se desechan después del análisis, no se producen los problemas de contaminación de las fases estacionarias con compuestos de la matriz (por ejemplo, derivados de ácidos grasos) que se observan con frecuencia en las columnas de la cromatografía en fase líquida de alto rendimiento.

Los cannabinoides clásicos y no clásicos (por ejemplo, HU-210 y CP-47.497-C8) se pueden detectar en forma selectiva y sensible con luz ultravioleta (UV), reactivo Fast Blue RR, yodo y yodoplatinato, mientras que los aminoalquilindoles (por ejemplo, JWH-018, JWH-081 y JWH-210) pueden detectarse con luz UV, yodo o yodoplatinato.

Placas de la CCD (fases estacionarias)

Revestimiento: Capa de gel de sílice G de 0,25 mm de grosor con un indicador inerte que produce fluorescencia en respuesta a la luz UV de 254 nm de longitud de onda (gel de sílice GF254).

Tamaños típicos de las placas: 20x20 cm; 20x10 cm; 10x5 cm (esta última debe utilizarse con el lado de 10 cm inmerso verticalmente en la cubeta).

Las placas preparadas por el analista deben activarse antes de su uso calentándolas en un horno a 120 °C durante un tiempo mínimo de 10 a 30 minutos. A continuación se almacenan en un desecador libre de grasa, sobre gel de sílice naranja*. La activación térmica no es necesaria en el caso de las placas revestidas que se encuentran en el mercado.

*Puede utilizarse también gel de sílice azul. Sin embargo, debe tenerse cuidado porque el gel de sílice azul contiene cloruro de cobalto(II), que puede ser carcinógeno para el ser humano.

Métodos

Sistemas eluyentes de desarrollo

Prepárese el sistema eluyente de desarrollo (sistema A, B o C, según se indica en el cuadro a continuación) con la mayor exactitud posible, utilizando pipetas, dosificadores y tubos graduados. Déjese el sistema eluyente en la cubeta de CCD por un tiempo suficiente para que se alcance la saturación en fase vapor antes del análisis (en las cubetas revestidas con papel adsorbente, este proceso tarda 5 minutos aproximadamente).

Cuadro 2. Sistemas eluyentes de desarrollo de la CCD

<i>Sistema</i>	<i>Disolvente</i>	<i>Proporciones de los disolventes (en volumen)</i>
Sistema A	<i>n</i> -Hexano	2
	Dietiléter	1
Sistema B [28]	Tolueno	9
	Dietilamina	1
Sistema C [28]	Acetato de etilo	18,5
	Cloruro de metileno	18
	Metanol	3
	NH ₄ OH concentrado	1

Preparación de las soluciones de la muestra

Dado que la finalidad del estudio de los productos a base de hierbas por CCD es un análisis cualitativo, no es necesario homogeneizar la materia vegetal. En una cantidad adecuada de mezcla de hierbas, por ejemplo, 100 mg, procédase a la extracción con una cantidad aproximadamente 10 veces superior de disolvente y mediante tratamiento con ultrasonidos durante al menos 10 minutos y a continuación centrifúguese la mezcla. Los disolventes adecuados son el acetonitrilo (con el que se observan manchas bien definidas) o el metanol (que disuelve mejor los cannabinoides sintéticos pero que produce manchas menos definidas).

Preparación de los patrones estándar

Prepárense los patrones estándar a una concentración de 0,5 mg/ml en un disolvente adecuado.

Siembra de la muestra y desarrollo

Apliquense en la cromatoplaqa, como toques separados, partes alícuotas de 1 µl y 5 µl de la solución de muestra, 2 µl de los patrones estándar y 2 µl de disolvente

(a modo de control negativo). La siembra debe efectuarse con cuidado para evitar dañar la superficie de la placa.

Notas analíticas

- El punto de partida de la siembra, es decir, la “línea de siembra”, debe encontrarse a por lo menos 2 cm del borde inferior de la placa.
- El espaciamiento entre las aplicaciones de la muestra (los toques) debe ser de por lo menos 1 cm, y los toques no deben encontrarse a menos de 1,5 cm de los bordes laterales de la placa.
- Para evitar las manchas difusas durante el desarrollo, el tamaño de los toques de muestra debe ser lo más pequeño posible (2 mm); ello se logra aplicando las soluciones en partes alicuotas y no en una sola descarga.
- Déjense secar los toques e introdúzcase la placa en una cubeta saturada con el eluyente (la saturación de la fase vapor se logra revistiendo las paredes de la cubeta con almohadillas o papel de filtro impregnados con el eluyente).
- Extráigase la placa de la cubeta de desarrollo lo antes posible una vez que el eluyente haya alcanzado la línea de desarrollo (a 10 cm de la línea de partida) marcada de antemano; de lo contrario, aparecerán manchas difusas.

Visualización/detección

Las placas deben secarse antes de la visualización. La evaporación del eluyente puede tener lugar a temperatura ambiente o efectuarse en una caja de desecación, un horno o con aire caliente. En estos últimos casos, debe tenerse cuidado de que ningún componente de interés sea térmicamente lábil.

Métodos de visualización/detección

a) Luz UV de 254 nm

Se observan manchas oscuras sobre un fondo verde. Las manchas se marcan y, si es necesario, se toma una fotografía digital.

b) Reactivo Fast Blue RR recién preparado

Disuélvanse 0,10 g de Fast Blue RR en 10 ml de agua destilada y añádanse 4 ml de solución de hidróxido de sodio al 20 % (m/v). Los cannabinoides clásicos y no clásicos aparecen como manchas rojo anaranjadas cuando se pulveriza la placa con el reactivo. Si es necesario, fotografíese la placa después del secado para la documentación.

c) Yodo

Colóquese la placa seca en una cámara de CCD que contenga cristales de yodo sólido. Los cannabinoides sintéticos aparecen como manchas de colores entre el amarillo y el marrón. Si es necesario, fotografíese la placa para la documentación.

d) Yodoplatinato

Disuélvanse 5 g de hexahidrato de ácido cloroplatínico y 35 g de yoduro potásico en 1.650 ml de agua destilada. Añádanse 49,5 ml de ácido clorhídrico concentrado. Los cannabinoides sintéticos aparecen como manchas de colores entre amarillo y verde, entre blanco y rosado, o moradas. Si es necesario, fotografíese la placa después del secado para la documentación.

Interpretación

Tras la visualización, márquense las manchas (por ejemplo, con un lápiz) y calcúlense los valores del factor de retardo (R_f).

$$R_f = \frac{\begin{array}{l} \text{Distancia de migración:} \\ \text{desde el origen hasta el centro de la mancha} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{Distancia de desarrollo:} \\ \text{desde el origen hasta el frente de disolvente} \end{array}}$$

Resultados

A continuación figuran los valores R_f de algunos cannabinoides sintéticos analizados con los métodos arriba descritos.

Cuadro 3. Valores R_f de la CCD de algunos cannabinoides sintéticos analizados con diversos sistemas de desarrollo

Compuesto	Sistema A	Valores R_f	
		Sistema B	Sistema C
Org 29647	0,00	—	—
AM-1220	0,00	—	—
AM-2233	0,00	—	—
Org 27759	0,01	—	—
Org 27569	0,01	—	—
JWH-200	0,02	0,60	0,85
HU-210	0,05	0,34	0,78
RCS-4 ortoisoómero	0,16	—	—
RCS-4	0,18	0,67	0,87
AM-2201	0,18	0,75	0,82

Compuesto	Sistema A	Valores R_f	
		Sistema B	Sistema C
AM-694	0,18	—	—
JWH-015	0,22	0,73	0,91
JWH-018	0,25	0,76	0,91
JWH-250	0,26	0,74	0,91
JWH-072	0,31	—	—
JWH-007	0,31	—	—
JWH-307	0,35	—	—
JWH-073	0,36	0,75	0,91
JWH-251	0,36	0,71	0,88
JWH-203	0,40	—	—
JWH-081	0,41	0,71	0,88
JWH-122	0,41	—	—
JWH-019	0,42	0,76	0,91
JWH-020	0,44	—	—
JWH-412	0,44	—	—
JWH-210	0,45	0,75	0,85
JWH-398	—	0,71	0,88
CP-47.497	—	0,31	0,77
CP-47.497-C8	—	0,31	0,77
CP-55.940	—	0,14	0,52
RCS-8	—	0,70	0,88
WIN-55.212-2	—	0,58	0,86

Debido a la similitud de los valores R_f de algunos compuestos, se recomienda utilizar otro método con mayor poder de discriminación (por ejemplo, la CG-EM o la CG-IRD) para confirmar la presencia de estas sustancias.

Notas analíticas

- Los valores R_f no siempre se pueden reproducir, debido a pequeños cambios en la composición y activación de la placa, los sistemas eluyentes, la saturación de la cubeta o la distancia de desarrollo. Por lo tanto, los valores R_f que se proporcionan son indicaciones del comportamiento cromatográfico de las sustancias enumeradas.
- Es esencial que simultáneamente se analicen patrones de referencia en la misma placa.
- Para los fines de la identificación deben tomarse siempre en consideración tanto el valor R_f como el color de los toques una vez que se hayan pulverizado con los reactivos de visualización apropiados.

5.4.3 Espectrometría de movilidad iónica (EMI)

La EMI es una técnica rápida y sensible que se presta para la detección de trazas de sustancias orgánicas a presión atmosférica. Puede emplearse como técnica de ensayo presuntivo rápido de numerosas drogas que son objeto de uso indebido, entre ellas los cannabinoides sintéticos. En la EMI, la toma y manipulación de las muestras es fácil, ya que basta tocar la superficie de la mezcla de hierbas con una varilla de madera y transferir las partículas adheridas a un filtro de teflón, distribuyéndolas sobre su superficie, para su análisis. Como existen sistemas portátiles de EMI disponibles en el mercado, esta técnica puede utilizarse para la detección rápida sobre el terreno (por ejemplo, en las investigaciones en el lugar del delito).

La EMI puede aplicarse en modo de ión positivo o negativo. Los aminoalquilindoles se detectan en modo de ión positivo, y los cannabinoides no clásicos (por ejemplo, CP-47.497-C8), en modo de ión negativo. Las matrices vegetales y los componentes aromáticos típicos de las mezclas de hierbas no interfieren con las señales de EMI de las sustancias activas presentes.

Aunque la selectividad de la EMI es limitada, un nuevo aminoalquilindol dará una señal en el margen de detección típico de los aminoalquilindoles del plasmagrama de la EMI; a continuación deberá realizarse un análisis de confirmación con instrumentos más sofisticados.

Los siguientes pasos forman parte de un método idóneo y puesto a prueba sobre el terreno para la realización de espectrometrías de movilidad iónica con sistemas portátiles:

Condiciones de funcionamiento de la EMI (en modo de ión positivo)

Fuente de ionización:	⁶³ Ni emisor de partículas beta o tubo de rayos X
Temperatura del desorbedor:	290 °C
Temperatura en el tubo de entrada:	285 °C
Temperatura en el tubo de deriva:	235 °C
Flujo de deriva:	300 ml/min
Flujo de la muestra:	200 ml/min
Flujo auxiliar:	51 ml/min
Gas de deriva:	Aire seco, purificado
Gas portador:	Aire seco, purificado
Calibrante/reactante:	Nicotinamida
Temperatura del calibrante:	80 °C
Anchura de la rejilla de apertura:	200 µs
Tiempo de desorción:	8,0 s
Período de análisis:	20 ms
Número de espectros:	20
Longitud del tubo de deriva:	6,9 cm

Umbral:	50 unidades digitales (para JWH-018)
Anchura del pico a media altura:	400 μ s (para JWH-018)
Nota: Estas condiciones pueden modificarse, siempre que se efectúe la validación adecuada.	

Debido a la mayor prevalencia de los aminoalquilindoles en los productos a base de hierbas, la EMI se emplea normalmente en modo de ión positivo. Para pasar al modo de ión negativo deben modificarse algunos de los parámetros arriba indicados (por ejemplo, temperatura del desorbedor: 222 °C, temperatura en el tubo de entrada: 238 °C, temperatura en el tubo de deriva: 105 °C).

Procedimientos

Para el análisis de mezclas de hierbas, tóquese la superficie de la muestra con una varilla de madera. Téngase cuidado de que no queden partículas visibles de la materia vegetal en la varilla después de la toma de la muestra. Pásese varias veces la punta de la varilla sobre el filtro de teflón colocado en el sistema de EMI e iníciase el análisis. Para contrarrestar la falta de homogeneidad, se recomienda tomar múltiples muestras con la varilla de madera.

Resultados

Los aminoalquilindoles dan señales nítidas en el modo de ión positivo dentro de un margen de detección característico con tiempos de deriva elevados y pueden compararse con las sustancias de referencia por los valores de su constante de movilidad reducida (K_0). Los cannabinoides no clásicos (por ejemplo, el CP-47.497 y sus homólogos) pueden detectarse con sensibilidad menor pero suficiente en el modo de ión negativo dentro de un margen de detección característico distante del margen de detección de los explosivos. A continuación figuran los valores K_0 de algunos cannabinoides sintéticos analizados con este método.

Cuadro 4. Valores K_0 de la EMI de algunos cannabinoides sintéticos

Compuesto	Valores K_0 (en modo de ión positivo) [cm ² /(V*s)]	Valores K_0 (en modo de ión negativo) [cm ² /(V*s)]
JWH-210	0,9596	—
JWH-081	0,9720	—
AM-1220	0,9878	—
JWH-019	0,9915	—
JWH-200	0,9926	—

Cuadro 4. (continuación)

Compuesto	Valores K_0 (en modo de ión positivo) [cm ² /(V*s)]	Valores K_0 (en modo de ión negativo) [cm ² /(V*s)]
JWH-122	0,9950	—
AM-2201	1,0163	—
JWH-250	1,0263	—
JWH-018	1,0288	—
AM-694	1,0348	—
JWH-203	1,0455	—
JWH-251	1,0483	—
JWH-073	1,0658	—
RCS-4	1,0659	—
CP-55.940	—	0,9045
CP-47.497-C8	—	0,9185
CP-47.497	—	0,9354

Normalmente, las sustancias que presentan diferencias inferiores a 0,025 en sus valores K_0 no pueden discriminarse mediante la EMI (por ejemplo, JWH-019/JWH-200 o JWH-073/RCS-4). Debido a que este método solo es adecuado para un ensayo presuntivo rápido, se recomienda utilizar otro método con un poder de discriminación mayor (por ejemplo la CG-EM o la CG-IRD) para confirmar la presencia de esas sustancias.

Notas analíticas

- El sistema de espectrometría de movilidad iónica debe dejarse calentar al menos durante 30 minutos antes del análisis para obtener tiempos de deriva estables.
- Para verificar el sistema, debe analizarse una mezcla estándar de referencia (suministrada normalmente por el fabricante del instrumento) que abarque la mayor parte de la escala del tiempo de deriva pertinente, y deben crearse alarmas adecuadas mediante comparación con los datos de referencia de la biblioteca.
- Antes del análisis de cualquier muestra, el filtro de teflón debe someterse a una medición en blanco para excluir la contaminación.
- Deben analizarse muestras puras de todos los aminoalquilindoles de interés y las constantes de movilidad reducida obtenidas deben almacenarse en la biblioteca.
- Si la señal del calibrante interno queda totalmente suprimida, el análisis debe repetirse con una cantidad menor de muestra.
- El seguimiento de la intensidad de la señal durante el tiempo de desorción puede ayudar a evitar los falsos positivos.

5.4.4 Cromatografía en fase gaseosa-espectrometría de masas (CG-EM)

La CG-EM es una de las técnicas de uso más común para la identificación de muestras de drogas forenses. Como técnica acoplada, aúna el poder de separación y la sensibilidad de la cromatografía en fase gaseosa con la especificidad del analito de una técnica espectroscópica. Puede proporcionar datos espectrales sumamente específicos sobre los distintos compuestos de una mezcla compleja sin aislamiento previo.

Preparación de la muestra y procedimiento de extracción

Añádase 1 ml de disolventes apolares o de polaridad media tales como metanol, etanol, acetonitrilo, acetato de etilo, acetona o isooctano a una pequeña cantidad de muestra (por ejemplo, 100 mg de materia vegetal o entre 1 y 2 mg de material sólido). Trátese el extracto con ultrasonidos y fíltrese antes del análisis.

Preparación del patrón interno (para la congelación de los tiempos de retención, si es necesario)

Disuélvase *N,N*-dibencil-2-clorobenzamida en metanol hasta obtener una concentración de 20 µg/ml. Añádase una alícuota del patrón interno a la muestra/el patrón estándar, si es preciso congelar los tiempos de retención del análisis.

Preparación de los patrones estándar

Prepárese un patrón estándar de cannabinoides sintéticos a una concentración de 1 mg/ml con un disolvente apropiado (por ejemplo, metanol, etanol, acetonitrilo, acetato de etilo, acetona o isooctano).

Condiciones de funcionamiento de la CG-EM

Condiciones del horno de CG:	La temperatura de la columna se fija inicialmente en 240 °C. La columna mantiene isotérmica por 1 minuto inmediatamente después de la inyección, y luego la temperatura se eleva a 330 °C, a razón de 6 °C/min, y se mantiene constante por 4 minutos
Columna:	TG-SQC, TG-5MS, DB-5MS o equivalente, 30 m x 0,25 mm de diámetro interno, película de 0,25 µm de grosor
Sistema de entrada:	Modo: splitless (flujo de purga: 30 ml/min, 0,3 min) Temperatura: 250 °C Gas portador: Helio, 1 ml/min, flujo constante Volumen de inyección: 1 µl

Detector:	Modo de ionización: impacto electrónico (IE), 70 eV
	Temperatura de la línea de transferencia: 280 °C
	Temperatura de la fuente de iones: 225 °C
Parámetros de la EM:	Retardo del disolvente: 3 min
	Modo Scan
	Rango de masas del análisis: 30 a 600 uma a 2,17 unidades/s
Nota: Estas condiciones pueden modificarse, siempre que se efectúe la validación adecuada.	

Resultados

A continuación se indican los tiempos de retención (TR) de la cromatografía en fase gaseosa de algunos cannabinoides sintéticos con las condiciones de funcionamiento arriba consignadas.

Cuadro 5. Tiempos de retención (TR) de la CG y principales iones de la CG-EM de algunos cannabinoides sintéticos

Compuesto	TR de la CG (min)	Principales iones de la CG-EM (m/z)
UR-144	6,05	214, 144, 296, 311M ⁺
XLR-11	6,70	232, 144, 314, 329M ⁺
CP-47.497	6,80	215, 233, 318M ⁺ , 300
CP-47.497-C8 (1S/3S o 1R/3R)	7,40	215, 233, 332M ⁺ , 314
CP-47.497-C8 (1S/3R o 1R/3S)	7,65	215, 233, 332M ⁺ , 314
Patrón interno	8,10	139, 141, 244, 335M ⁺
RCS-4 ortoíómero	8,75	321M ⁺ , 264, 304, 144
JWH-251	9,20	214, 144, 116, 319M ⁺
JWH-203	10,00	214, 144, 116, 339M ⁺
JWH-250	10,15	214, 144, 116, 335M ⁺
RCS-4	10,65	321M ⁺ , 264, 135, 214
JWH-015	11,35	327M ⁺ , 326, 310, 270
JWH-073	11,78	327M ⁺ , 200, 284, 310
AM-694	11,82	232, 435M ⁺ , 220, 360
APINACA	11,90	215, 145, 294, 365M ⁺

Cuadro 5. (continuación)

<i>Compuesto</i>	<i>TR de la CG (min)</i>	<i>Principales iones de la CG-EM (m/z)</i>
JWH-412	12,15	359M ⁺ , 302, 145, 173
Org 27759	12,50	147, 134, 118, 353M ⁺
JWH-018	12,60	341M ⁺ , 284, 324, 214
JWH-007	13,00	355M ⁺ , 354, 340, 298
JWH-307	13,15	385M ⁺ , 155, 188, 314
JWH-019	13,45	355M ⁺ , 284, 228, 338
AM-2201	13,70	359M ⁺ , 232, 284, 342
JWH-122	13,90	355M ⁺ , 298, 338, 214
JWH-210	14,50	369M ⁺ , 312, 352, 214
MAM-2201	14,80	373M ⁺ , 298, 356, 232
Org 29647	15,05	159, 91, 143, 381M ⁺
JWH-081	15,30	371M ⁺ , 314, 354, 214
AM-1248	15,60	98, 70, 99, 390M ⁺
AM-2232	16,20	225, 352M ⁺ , 127, 284
AM-1220	16,30	98, 127, 155, 382M ⁺
JWH-200	16,75	100, 127, 155, 384M ⁺
Org 27569	19,30	187, 174, 253, 409M ⁺

Nota: M⁺ indica un ión molecular.

La identificación se efectúa comparando el tiempo de retención y el espectro de masas del analito con el del patrón de referencia. Lo ideal es que todos los compuestos identificados mediante CG-EM se comparen con un espectro de masas corriente del patrón de referencia adecuado, preferiblemente obtenido con el mismo instrumento, utilizado en las mismas condiciones. Dada la dificultad de obtener muestras de referencia de los cannabinoides sintéticos, debe tenerse cuidado con el uso de espectros de referencia recabados de otras fuentes, como las bibliotecas comerciales o los espectros generados por los usuarios.

Para la identificación correcta de los regioisómeros puede ser necesario utilizar también otras técnicas, como la detección por rayos IR, la CG-IRD o la EMⁿ.

5.4.5 Cromatografía en fase gaseosa (CG) con detectores de ionización de llama (CG-FID) [25]

La CG-FID puede emplearse para determinaciones tanto cualitativas como cuantitativas. A continuación se describe el método de análisis cuantitativo por CG-FID de algunos cannabinoides sintéticos seleccionados, como guía que puede ajustarse

y modificarse como sea necesario para el análisis de otros cannabinoides sintéticos de interés. Conviene señalar que en el caso de las muestras con concentraciones muy bajas es preferible emplear una técnica más sensible, como la cromatografía en fase líquida-espectrometría de masas (CL-EM) o la CL-EM/EM, para las determinaciones cuantitativas.

Preparación del patrón interno

Disuélvase metiloleato en metanol hasta obtener una concentración de 0,8 mg/ml.

Preparación de los patrones estándar de cannabinoides sintéticos

Prepárense con exactitud patrones estándar de los cannabinoides sintéticos objeto del análisis con la gama de concentraciones de trabajo adecuada. Este método podría validarse para el rango de concentraciones de 0,02 a 2,00 mg/ml en metanol. En general, deberán prepararse al menos cinco patrones estándar para obtener una buena curva de calibración lineal. A continuación, añádanse 500 µl del patrón interno a 500 µl de cada patrón estándar y agítese la mezcla en un agitador vorticial. Inyéctese 1 µl de la mezcla en el cromatógrafo en fase gaseosa.

Preparación de las soluciones de la muestra ("mezcla de hierbas" desconocida)

Tómese una muestra representativa del material incautado. Homogeneícese e introdúzcanse exactamente 50 mg del material incautado en un tubo de centrifugación y añádanse cuantitativamente 5 ml de metanol. Trátese la mezcla con ultrasonidos y centrifúguese por 5 minutos a 2.500 rpm. A continuación, añádanse 500 µl del patrón interno a 500 µl de la solución sobrenadante y agítese la mezcla en un agitador vorticial. Inyéctese 1 µl de la mezcla en un cromatógrafo en fase gaseosa. Realícese por lo menos una duplicación del análisis.

Condiciones de funcionamiento de la CG

Detector:	Detector de ionización de llama (FID)
Columna:	Factor Four VF-5ms, con 5 % fenilmetilpolisiloxano o equivalente, 30 m x 0,25 mm de diámetro interno, película de 0,25 µm de grosor
Gas portador:	Helio 1,2 ml/min
Gas detector:	Hidrógeno 35 ml/min, aire 350 ml/min
Temperatura del sistema de entrada:	250 °C
Temperatura del detector:	280 °C

Temperatura del horno:	La temperatura de la columna se fija inicialmente en 70 °C y se eleva primero a 180 °C, a razón de 40 °C/min, y luego a 300 °C, a razón de 10 °C/min
Volumen de inyección:	1 µl
Razón de separación:	30:1
Nota: Estas condiciones pueden modificarse, siempre que se efectúe la validación adecuada.	

Resultados

A continuación se indican el orden de elución y los tiempos de retención correspondientes.

Cuadro 6. Orden de elución y tiempos de retención correspondientes en la CG-FID de algunos cannabinoides sintéticos

Compuesto	Tiempo de retención (min)
Patrón interno	9,3
JWH-073	18,3
JWH-018	19,4
JWH-073 (4-metilnaftilo)	20,1
JWH-122	22,8

Cálculos

El porcentaje correspondiente al cannabinoide sintético objeto del análisis en la muestra se calcula trazando primero una curva de calibración lineal de la relación de respuesta observada en los patrones de calibración (es decir, el área del pico del patrón estándar del cannabinoide/el área del pico del patrón interno) con respecto a la concentración del patrón estándar de cannabinoide utilizado (mg/ml). A partir de la respuesta de la solución de la mezcla desconocida y del correspondiente valor de la curva de calibración puede obtenerse el porcentaje correspondiente al cannabinoide sintético en la muestra utilizando la fórmula siguiente:

$$\text{Porcentaje de cannabinoide sintético} = 100 \times \frac{V \times \frac{(R_s - b)}{a}}{W_s}$$

Donde:

- V: Volumen del disolvente de extracción utilizado (ml)
- R_s: Relación de respuesta observada en la muestra (es decir, área del pico del cannabinoide/área del pico del patrón interno)

- a: Gradiente/pendiente de la curva de calibración
- b: Ordenada en el origen de la curva de calibración
- W_s : Peso de la muestra (mg)

En general, con la instrumentación de CG y los programas informáticos modernos no es necesario calcular la pureza en forma manual. Normalmente, una vez que el operador ha introducido las concentraciones de los diferentes patrones de calibración y de la solución de la muestra desconocida, el sistema establece automáticamente la curva de calibración y realiza los cálculos para cualquier punto de esta en cuanto termina el análisis. Por lo general, el resultado se expresa luego como el contenido porcentual de la droga desconocida en el material de muestra originario, es decir, como la pureza de la muestra (el peso del analito respecto del peso de la muestra).

5.4.6 Cromatografía en fase líquida de ultraalto rendimiento (CLUAR)

Los sistemas de CLUAR tienen capacidades cromatográficas superiores a las de la cromatografía en fase líquida de alto rendimiento (CLAR) tradicional, ya que las presiones que se utilizan son mayores y las columnas contienen partículas de menos de 2 μm , lo que aumenta la eficiencia de la separación. La velocidad de separación de la CLUAR también es considerablemente más alta, lo que permite un procesamiento más rápido de las muestras. Además, esta técnica es menos dañina para el medio ambiente, ya que consume menos disolvente y produce menos desechos.

Dada la gran variedad de fases estacionarias y móviles entre las que el analista puede escoger, a continuación se describe un método de análisis cuantitativo por CLUAR, que puede modificarse para mejorar los resultados. Este método se ha puesto a prueba en la práctica en casos forenses y se considera idóneo. Con la debida verificación y validación, el mismo método puede utilizarse también para otros cannabinoides sintéticos.

Preparación del patrón interno

Pésense 20 mg de ácido 1-pirenobutírico en un matraz volumétrico de 10 ml y dilúyanse hasta ese volumen con metanol, de modo que la concentración sea de 2,0 mg/ml.

Preparación de los patrones estándar de los cannabinoides sintéticos

Pésense con exactitud 5 mg del analito en un matraz volumétrico de 5 ml y dilúyanse hasta ese volumen con metanol para obtener una solución madre con una concentración de 1,0 mg/ml. Para algunos analitos (por ejemplo, JWH-018, JWH-019 y JWH-073) hay soluciones con concentraciones de 1,0 mg/ml disponibles en el mercado. La solución madre puede conservarse durante al menos un año en un lugar refrigerado.

Prepárese con exactitud una gama de concentraciones de trabajo apropiada. En general deben prepararse por lo menos cinco patrones estándar para obtener una buena curva de calibración lineal. A continuación figura un ejemplo de la preparación de una curva de calibración de seis puntos.

Cuadro 7. Ejemplo de la preparación de una curva de calibración de seis puntos

Nivel de calibración	Volumen de la solución madre estándar añadida (µl)	Volumen del patrón interno añadido (µl)	Volumen total tras la dilución con metanol (ml)	Concentración final del patrón interno (µg/ml)	Concentración final de los cannabinoides (µg/ml)
Nivel 1	10	40	10	8	1
Nivel 2	10	8	2	8	5
Nivel 3	25	4	1	8	25
Nivel 4	50	4	1	8	50
Nivel 5	37,5	2	0,5	8	75
Nivel 6	50	2	0,5	8	100

Preparación de las soluciones de la muestra (“mezcla de hierbas” desconocida)

Tómese una muestra representativa del material incautado y homogeneícese cuidadosamente. Pése con exactitud 200 mg de la muestra en un matraz y añádanse cuantitativamente 2 ml de metanol. Aplíquese la extracción asistida por ultrasonidos durante 15 minutos, inviértase el matraz al menos 10 veces, y centrifúguese durante 2 minutos a 5.000 rpm, o déjese sedimentar. A continuación, transváse el líquido a otro matraz y repítase el paso de la extracción dos veces, con porciones de 2 ml de metanol. Tómese una alícuota de aproximadamente 2 ml de los extractos combinados y fíltrese con un filtro de jeringa ($\leq 0,45\ \mu\text{m}$). Con una pipeta, transfíranse exactamente 50 µl del filtrado y 8 µl del patrón interno a un matraz volumétrico de 2 ml y dilúyanse hasta ese volumen con la fase móvil A. Inyéctense 5 µl de la solución de la muestra en el CLUAR. Efectúese por lo menos una duplicación del análisis.

Condiciones de funcionamiento de la CLUAR	
Columna:	Acquity UPLC BEH Fenilo, 100 mm x 2,1 mm de diámetro interno, tamaño de las partículas: 1,7 µm
Fase móvil:	A: 95 % de acetonitrilo, 4,9 % de agua, 0,1 % de ácido fórmico B: 95 % de agua, 4,9 % de acetonitrilo, 0,1 % de ácido fórmico

Gradiente:	0,0 a 12,5 min 41 % A 12,5 a 20,0 min 50 % A 20,0 a 23,0 min 60 % A 23,0 a 27,5 min 41 % A
Caudal:	0,4 ml/min
Presión:	512 bar
Temperatura:	30 °C
Detección:	Haz de fotodiodos (PDA), longitudes de onda de detección (véase más abajo)
Volumen de inyección:	5 µl

Nota: Estas condiciones pueden modificarse, siempre que se efectúe la validación adecuada.

Resultados

La identificación se realiza comparando el tiempo de retención del analito con el tiempo de retención de un patrón de referencia. El patrón interno permite utilizar el índice de retención como criterio de identificación adicional. Además, el espectro UV del analito debe compararse con el de un patrón estándar de referencia.

Cuadro 8. Tiempos de retención y longitudes de onda de detección de la CLUAR para algunos cannabinoides sintéticos

<i>Compuestos</i>	<i>Tiempo de retención (min)</i>	<i>Longitud de onda de detección (nm)</i>
JWH-200	1,9	217
AM-1220	2,3	217
Patrón interno	5,7	198/242
AM-694	11,8	209
RCS-4	12,8	209
CP-47.497	13,7	198
JWH-250	15,5	209
JWH-073	16,3	217
CP-47.497-C8	16,6	198
JWH-251	17,0	209
JWH-203	17,6	209
JWH-018	19,2	217
JWH-007	20,0	217

Cuadro 8. (continuación)

Compuestos	Tiempo de retención (min)	Longitud de onda de detección (nm)
JWH-081	20,6	209
JWH-122	21,9	217
JWH-019	22,5	217
JWH-210	24,0	217

Cuantificación

Debido a las posibles interacciones de la matriz, es muy aconsejable efectuar una calibración con el patrón interno. Se recomienda el uso del área del pico para la cuantificación, porque los efectos negativos del ensanchamiento del pico pueden reducirse al mínimo. Como controles de precisión pueden utilizarse “mezclas de hierbas” o combinaciones previamente caracterizadas.

Notas analíticas

- Este método es adecuado para las “mezclas de hierbas” con contenidos de cannabinoides de hasta 100 mg/g, que dan soluciones de la muestra con concentraciones de hasta 100 µg/ml. Si el contenido es superior a 100 mg/g, se requerirá una mayor dilución o la repetición del análisis con menos cantidad de muestra.
- El mismo método podría utilizarse también para análisis cualitativos, pero no es necesario para el análisis duplicado. Basta analizar solo una muestra por homogenado con extracción directa de un solo empleo.

Cálculos

El porcentaje correspondiente al cannabinoide sintético objeto del análisis en la muestra se calcula trazando primero una curva de calibración lineal de la relación de respuesta observada en los patrones de calibración (es decir, el área del pico del patrón estándar del cannabinoide/el área del pico del patrón interno) con respecto a la concentración del patrón estándar de cannabinoide utilizado (mg/ml). A partir de la respuesta de la solución de la mezcla desconocida y del correspondiente valor de la curva de calibración puede obtenerse el porcentaje correspondiente al cannabinoide sintético en la muestra utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de cannabinoide sintético} = 100 \times \frac{V \times \frac{(R_s - b)}{a}}{W_s}$$

Donde:

- V: Volumen del solvente de extracción utilizado (ml)
- R_s : Relación de respuesta observada para la muestra (es decir, área del pico del cannabinoide/área del pico del patrón interno)
- a: Gradiente/pendiente de la curva de calibración
- b: Ordenada en el origen de la curva de calibración
- W_s : Peso de la muestra (mg)

En general, con la instrumentación de CL y los programas informáticos modernos no es necesario calcular la pureza en forma manual. Normalmente, una vez que el operador ha introducido las concentraciones de los diferentes patrones de calibración y de la solución de la muestra desconocida, el sistema establece automáticamente la curva de calibración y realiza los cálculos para cualquier punto de esta en cuanto termina el análisis. Por lo general, el resultado se expresa luego como el contenido porcentual de la droga desconocida en el material de muestra originario, es decir, como la pureza de la muestra (el peso del analito respecto del peso de la muestra).

5.4.7 Cromatografía en fase líquida-espectrometría de masas en tándem (CL-EM/EM)

La CL-EM/EM es una técnica poderosa que combina las características de separación de la CLAR o la CLUAR convencionales con la capacidad de detección de un espectrómetro de masas en tándem, lo que se traduce en una selectividad considerablemente mayor y una menor interferencia entre los ingredientes activos y la matriz. Sus bajos límites de detección permiten el análisis de trazas y de especímenes biológicos tales como sangre o pelos. Gracias a su alta sensibilidad y selectividad, la CL-EM/EM es adecuada para el análisis tanto cualitativo como cuantitativo de cannabinoides sintéticos presentes en pequeñas concentraciones en mezclas complejas de hierbas.

A continuación se describe un método de análisis cuantitativo por CL-EM/EM, que puede modificarse para mejorar los resultados. Este método se ha puesto a prueba en la práctica en casos forenses y se considera idóneo. Con la debida verificación y validación, el mismo método puede utilizarse también para otros cannabinoides sintéticos.

Preparación del patrón interno

Pésense 200 mg de difenilamina (DFA) en un matraz volumétrico de 2 l y dilúyanse hasta ese volumen con etanol, de modo que la concentración sea de 100 mg/l.

Preparación de la solución madre de cannabinoides sintéticos

Prepárese una solución madre que contenga todos los analitos que se hayan de cuantificar (por ejemplo, JWH-018, JWH-019 y JWH-073) en concentraciones de 1,0 mg/l y el patrón interno de difenilamina a una concentración de 100 µg/l, de la siguiente manera:

Con una pipeta, colóquense exactamente 100 µl del patrón estándar de 100 mg/l y 100 µl de la solución de 1 g/l de cada analito (hay concentraciones de 1 mg/ml disponibles en el mercado) en un matraz volumétrico de 100 ml y dilúyanse hasta ese volumen con etanol. La solución madre puede conservarse durante al menos un año en un lugar refrigerado.

Preparación del patrón estándar de trabajo de los cannabinoides sintéticos

Para preparar los patrones estándar de trabajo, el patrón interno de 100 mg/l debe primero diluirse 1.000 veces para obtener una concentración de 100 µg/l (patrón interno diluido). Esta solución se utiliza para diluir la solución madre hasta obtener la concentración deseada.

Prepárese con exactitud una gama de concentraciones de trabajo apropiada. Por lo general deben prepararse por lo menos cinco patrones estándar para obtener una buena curva de calibración lineal. A continuación figura un ejemplo de la preparación de una curva de calibración de cinco puntos.

Cuadro 9. Ejemplo de la preparación de una curva de calibración de cinco puntos

Nivel de calibración	Volumen de la solución madre añadida (µl)	Volumen del matraz volumétrico utilizado para enrasar con el patrón interno diluido (ml)	Concentración final del patrón interno (µg/l)	Concentración final de los cannabinoides (µg/l)
Nivel 1	30	10	100	3
Nivel 2	100	10	100	10
Nivel 3	300	10	100	30
Nivel 4	1.000	10	100	100
Nivel 5	2.000	10	100	200

Preparación de las soluciones de la muestra (“mezcla de hierbas” desconocida)

Tómese una muestra representativa del material incautado y homogeneícese cuidadosamente. Pése con exactitud 100 mg de la muestra en un matraz de 50 ml y

enrásese con el patrón interno (100 mg/l). Aplíquese la extracción asistida por ultrasonidos durante 5 minutos, inviértase el matraz al menos 10 veces, y centrifúguese durante 2 minutos a 5.000 rpm, o déjese sedimentar. Tómese una alícuota de aproximadamente 2 ml y fíltrese con un filtro de jeringa ($\leq 0,45 \mu\text{m}$). Con una pipeta, transfíranse exactamente 50 μl del filtrado a un matraz volumétrico de 50 ml y dilúyanse hasta ese volumen con etanol. Inyéctense 5 μl de la solución de la muestra en el CL-EM/EM. Debe efectuarse por lo menos una duplicación del análisis.

Condiciones de funcionamiento de la CL-EM/EM

CL:

Columna:	Columna analítica C18 (por ejemplo, de 100 mm x 2,1 mm de diámetro interno, 3,5 μm), columna de guardia C18 (10 mm x 2,1 mm de diámetro interno, 3,5 μm)
Fase móvil:	Ácido fórmico, 0,1 % (A): agua (B): metanol (C)
Gradiente:	A:B:C inicial = 10:70:20, lineal hasta 10:5:85 en 10 min, isocrático por 10 min, regreso a las condiciones iniciales en 1 min, 4 min de equilibración (duración total del análisis: 25 min)
Caudal:	0,2 ml/min
Temperatura de la columna:	30 °C
Volumen de inyección:	5 μl

EM/EM:

Modo de detección:	Monitoreo de Reacciones Múltiples (MRM)
Modo de ionización:	Ionización simultánea por electrospray positiva y negativa (ESI ⁺ y ESI ⁻)
Voltaje capilar:	3,5 kV
Temperatura de la fuente de iones:	120 °C
Temperatura de desolvatación:	350 °C
Gas del cono:	Nitrógeno, caudal 60 l/h
Gas de desolvatación:	Nitrógeno, caudal 650 l/h
Gas de colisión:	Argón

Nota: Estas condiciones pueden modificarse, siempre que se efectúe la validación adecuada.

En el cuadro que sigue figuran los parámetros y datos de la espectrometría de masas de algunos cannabinoides sintéticos y el patrón interno (DFA).

Cuadro 10. Parámetros y datos espectrométricos de la CL-EM/EM de algunos cannabinoides sintéticos

<i>Analito</i>	<i>Modo de ionización</i>	<i>Ión precursor (m/z)</i>	<i>Iones producto (m/z)</i>	<i>Voltaje del cono (V)</i>	<i>Energía de colisión (eV)</i>
DPA (IS)	ESI ⁺	170,17	93,26	31	28
JWH-018	ESI ⁺	342,20	154,99	30	25
			145,07		42
JWH-019	ESI ⁺	356,15	154,99	34	25
			126,99		44
JWH-073	ESI ⁺	328,10	155,12	33	22
			126,85		50
JWH-081	ESI ⁺	372,10	185,25	33	25
			214,29		25
JWH-122	ESI ⁺	356,35	169,43	29	25
			214,21		25
JWH-200	ESI ⁺	385,15	154,99	25	20
			114,25		25
JWH-210	ESI ⁺	370,25	183,46	33	26
			214,40		26
JWH-250	ESI ⁺	336,20	120,95	25	20
			188,19		16
AM-2201	ESI ⁺	360,10	155,37	30	25
			145,14		40
RCS-4	ESI ⁺	322,20	135,03	25	24
			76,74		50
CP-47.497	ESI ⁻	317,2	299,08	45	26
			159,59		55

Nota: Los iones precursores se detectan como [M+H]⁺ en el modo ESI⁺ o [M-H]⁻ en el modo ESI⁻.

Resultados

La identificación se efectúa comparando el tiempo de retención del analito con el del patrón estándar de referencia. El patrón interno permite utilizar el índice de retención como un criterio de identificación adicional. Además, la relación de las intensidades de las dos transiciones de masas (ión precursor→ ión producto 1/ión precursor→ión producto 2) de un analito debe compararse con la de un patrón estándar de referencia. Deben seleccionarse transiciones de masas adecuadas para evitar la interferencia entre

diferentes analitos, particularmente en el caso de los isómeros (por ejemplo, JWH-019 y JWH-122). Así, pueden diferenciarse incluso compuestos que coeluyen. En algunos casos puede ser necesario registrar el espectro del producto de un precursor particular (modo Daughter Scan; DS) para la identificación inequívoca. Debe tenerse cuidado al identificar los compuestos regioisoméricos.

Cuadro 11. Tiempos de retención en la CL-EM/EM de algunos cannabinoides sintéticos

<i>Compuestos</i>	<i>Tiempos de retención (min)</i>
JWH-200	11,7
Difenilamina (patrón interno)	15,0
AM-2201	16,2
RCS-4	17,0
JWH-250	17,1
JWH-073	17,2
JWH-018	18,1
JWH-081	18,5
JWH-019	18,9
JWH-122	19,0
CP-47.497 (en modo ESI)	19,2
JWH-210	19,9

Cuantificación

Debido a las posibles interacciones de la matriz y a las características específicas de los espectrómetros de masas, es muy aconsejable efectuar una calibración con el patrón interno y deben estudiarse los efectos de la matriz. Se recomienda el uso del área del pico para la cuantificación, porque los efectos negativos del ensanchamiento del pico pueden reducirse al mínimo. En general se utilizan para la cuantificación las transiciones de masas más intensas (traza primaria; iones producto de la parte superior del cuadro 10), mientras que las transiciones de masas menos intensas (traza secundaria; iones producto de la parte inferior del cuadro 10) pueden favorecerse cuando existen interferencias. Los analitos que coeluyen también pueden cuantificarse simultáneamente con este método. Como control de precisión pueden emplearse “mezclas de hierbas” o combinaciones previamente caracterizadas.

Cálculos

El porcentaje correspondiente al cannabinoide sintético objeto del análisis en la muestra se calcula trazando primero una curva de calibración lineal de la relación de respuesta observada en los patrones de calibración (es decir, el área del pico del patrón estándar del cannabinoide/el área del pico del patrón interno) con respecto

a la concentración del patrón estándar de cannabinoide utilizado (mg/ml). A partir de la respuesta de la solución de la mezcla desconocida y del correspondiente valor de la curva de calibración puede obtenerse el porcentaje correspondiente al cannabinoide sintético en la muestra utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de cannabinoide sintético} = 100 \times \frac{V \times \frac{(R_s - b)}{a}}{W_s}$$

Donde:

- V: Volumen del solvente de extracción utilizado (ml)
- R_s: Relación de respuesta observada para la muestra (es decir, área del pico del cannabinoide/área del pico del patrón interno)
- a: Gradiente/pendiente de la curva de calibración
- b: Ordenada en el origen de la curva de calibración
- W_s: Peso de la muestra (mg)

En general, con la instrumentación de CL y los programas informáticos modernos no es necesario calcular la pureza de forma manual. Normalmente, una vez que el operador ha introducido las concentraciones de los diferentes patrones de calibración y de la solución de la muestra desconocida, el sistema establece automáticamente la curva de calibración y realiza los cálculos para cualquier punto de esta en cuanto termina el análisis. Por lo general, el resultado se expresa luego como el contenido porcentual de la droga desconocida en el material de muestra originario, es decir, como la pureza de la muestra (el peso del analito respecto del peso de la muestra).

Notas analíticas

- Este método es adecuado para las "mezclas de hierbas" con contenidos de cannabinoides de hasta 100 mg/g, que dan soluciones de la muestra con concentraciones de hasta 200 µg/l. Si el contenido es superior a 100 mg/g, se requerirá una mayor dilución o la repetición del análisis con menos cantidad de muestra.
- El mismo método podría utilizarse también para análisis cualitativos, pero no es necesario para el análisis duplicado. Basta analizar solo una muestra por homogenado con extracción directa de un solo empleo. El método no es adecuado para el análisis no específico.
- Con el método descrito pueden detectarse simultáneamente los cannabinoides JWH-018, JWH-019, JWH-073, JWH-081, JWH-122, JWH-200, JWH-210, JWH-250, AM-2201, RCS-4 y CP-47.497.
- Cabe señalar que el CP-47.497 se detecta solo en el modo de ionización negativa, mientras que los otros analitos se ionizan en el modo positivo.

6. Otras técnicas analíticas aplicables a los cannabinoides sintéticos

En esta sección se ofrece una breve reseña de algunas otras técnicas y enfoques que pueden aplicarse para el análisis de los cannabinoides sintéticos en los productos a base de hierbas.

6.1 Espectroscopia infrarroja (ATR-IR y EITF)

En general, sin extracción no es posible realizar un análisis cualitativo de las mezclas de hierbas por espectroscopia infrarroja, debido a la complejidad de la matriz y a la concentración relativamente baja de los cannabinoides sintéticos presentes en los productos a base de hierbas. Sin embargo, puesto que los cannabinoides sintéticos se encuentran en general adheridos a la superficie de la matriz de hierbas, en la mayoría de los casos que incluyen la extracción es posible obtener un buen espectro IR tras la evaporación del extracto directamente sobre la celda de diamante de ATR. Con todo, los factores de correlación que calcula el software del espectrómetro IR para los cannabinoides sintéticos en extractos de mezclas de hierbas son ligeramente inferiores a los de las sustancias puras. Por lo tanto, es imprescindible realizar un control de plausibilidad (por ejemplo, por comparación visual del espectro de referencia del cannabinoide puro con el espectro del extracto de muestra analizado).

En el caso de las incautaciones de cannabinoides sintéticos en polvo, el análisis cualitativo por espectroscopia infrarroja es más sencillo. La espectroscopia infrarroja puede ser útil también para identificar nuevas sustancias [29]. En la elucidación de la estructura de compuestos desconocidos, la espectroscopia infrarroja es un medio muy valioso para diferenciar los isómeros cuando no es posible hacerlo con las técnicas de trampa de iones (EM^+).

6.2 Cromatografía en fase gaseosa con detección por rayos infrarrojos (CG-IRD)

Una técnica acoplada de cromatografía en fase gaseosa (CG) y detección por rayos infrarrojos (IRD) combina el poder de separación de la CG con la identificación

molecular de la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (EITF). Como existen numerosas variantes de los cannabinoides sintéticos, la CG-IRD es un instrumento valioso para confirmar la identidad de moléculas muy parecidas tales como los regioisómeros, los diastereómeros y otras moléculas isobáricas que presentan espectros de EM casi idénticos.

6.3 Espectrometría de masas con ionización en condiciones ambientales

Debido a que los cannabinoides sintéticos básicamente se adhieren a la superficie de las hierbas, es posible utilizar técnicas de espectrometría de masas con ionización en condiciones ambientales, como la espectrometría de masas de análisis directo en tiempo real (EM-DART) [30], la fotoionización por desorción a presión atmosférica (DAPPI) [31] o la espectrometría de masas con ionización por desorción con electrospray (EM-DESI), para tomar muestras de estos cannabinoides directamente de la materia vegetal, sin necesidad de extracción y de preparación de la muestra. La EM-DESI puede utilizarse también en combinación con la cromatografía en capa delgada.

6.4 Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR)

Además de la identificación mediante mediciones de masas exactas, la EMAR puede utilizarse para determinar las composiciones elementales precisas de nuevas moléculas sintéticas y calcular los equivalentes de doble enlace y la masa precisa de los fragmentos de iones. Además, la EMAR unida al filtrado por defecto de masa permite llevar a cabo un análisis no específico de compuestos conexos y análogos que puede ser muy útil como ensayo presuntivo para detectar los cannabinoides sintéticos [32 a 34].

6.5 Espectrometría de masas con ionización y desorción por láser asistida por matriz-tiempo de vuelo (EM-MALDI-TOF)

Otra posibilidad de análisis cualitativo directo de las mezclas de hierbas es la espectrometría de masas con ionización y desorción por láser asistida por matriz y tiempo de vuelo. Esta es una operación sencilla y rápida, que permite un análisis de gran productividad y que puede utilizarse para un primer ensayo presuntivo del material confiscado [35].

6.6 Espectroscopia por resonancia magnética nuclear (RMN)

El hecho de que exista un gran número de cannabinoides sintéticos estructuralmente relacionados crea la necesidad de instrumentos eficaces que proporcionen la información estructural necesaria para su diferenciación. La resonancia magnética nuclear, es decir, la RMN ^1H y la RMN ^{13}C , permite identificar los nuevos cannabinoides sintéticos desconocidos y elucidar su estructura. Y experimentos de RMN bidimensional, como H,H-COSY, H,H-NOESY, H,C-HSQC y H,C-HMBC, permiten obtener una prueba definitiva de la estructura. Además, la RMN puede utilizarse también para determinaciones cuantitativas. Aunque la espectroscopia por resonancia magnética nuclear es un instrumento poderoso para la identificación de análogos, su costo y la competencia técnica que exige impiden su aplicación generalizada en los análisis de rutina [5 a 7, 9, 17].

7. Aislamiento y caracterización química de nuevos cannabinoides sintéticos

Debido al gran número de nuevos cannabinoides sintéticos que aparecen, es muy probable que el analista se encuentre con una sustancia desconocida en un producto a base de hierbas y sospeche la presencia de un nuevo cannabinoide sintético. Ahora bien, la identificación de esta sustancia desconocida sería difícil sin patrones y espectros de referencia disponibles comercialmente, y sin la investigación y las publicaciones correspondientes. Por lo tanto, para identificar esta nueva sustancia, es preciso aislarla primero de una mezcla de hierbas, convertirla en un compuesto puro o enriquecido y someter luego este compuesto a diversas técnicas analíticas para caracterizarlo. El diagrama de la Figura II ilustra un enfoque general del aislamiento y la caracterización de un nuevo cannabinoide sintético.

Aislamiento de un nuevo compuesto

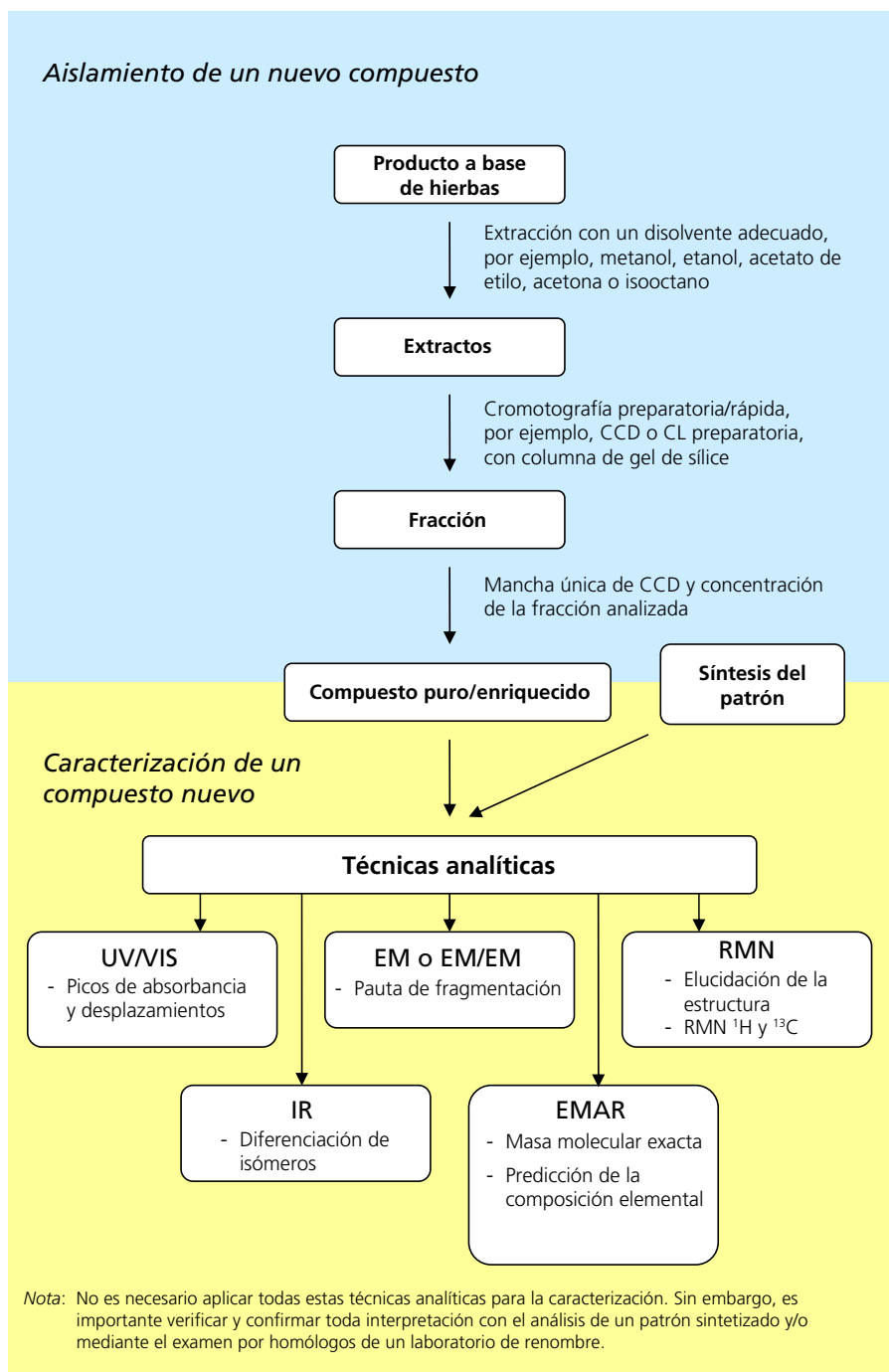
El primer paso sería identificar un disolvente adecuado para extraer el cannabinoide desconocido (por ejemplo, metanol, etanol, acetato de etilo, acetona o isooctano) del producto a base de hierbas. La extracción debe efectuarse con aplicación de ultrasonidos y el extracto debe filtrarse. A continuación, el extracto debe someterse a una cromatografía preparatoria/rápida (por ejemplo, CCD o CL preparatoria, con columna de gel de sílice) para obtener una fracción que contenga el cannabinoide desconocido. Esta fracción debe dar una sola mancha en un análisis por CCD (visualización por luz UV y/u otros reactivos, como el reactivo Fast Blue RR, yodo o yodoplatinato). Luego, la fracción que contiene el compuesto puro o enriquecido debe concentrarse y en esa forma se utilizará en los análisis posteriores para caracterizar el cannabinoide desconocido.

Caracterización de un nuevo compuesto

Existen diversas técnicas para la caracterización de un cannabinoide desconocido. Es importante utilizar una combinación de técnicas tales como la espectrometría de masas de alta resolución y la resonancia magnética nuclear para elucidar la estructura de forma inequívoca. Otras técnicas, como los rayos infrarrojos y la espectrometría de masas en tandem (EM/EM) pueden ser útiles para obtener otra información estructural, incluida la diferenciación de isómeros o diastereómeros.

Con estas técnicas puede deducirse la estructura del cannabinoide desconocido. A partir de ella, debe sintetizarse luego un patrón de referencia (ya que no estará disponible comercialmente). El patrón sintetizado debe analizarse con las técnicas arriba mencionadas, en las mismas condiciones. Si el análisis del patrón de referencia sintetizado da los mismos resultados, la estructura deducida del cannabinoide desconocido podrá confirmarse. Sin embargo, con las técnicas basadas en la radiación ultravioleta y visible (UV/VIS), los espectros UV/VIS idénticos de la muestra y el patrón no confirman la identidad del compuesto. En cambio, los espectros UV/VIS diferentes son una información útil que confirma que el compuesto es distinto del patrón.

Aunque no es necesario aplicar todas las técnicas analíticas arriba mencionadas para la caracterización, es importante verificar y confirmar toda interpretación con el análisis de un patrón sintetizado y/o con el examen por homólogos de un laboratorio de renombre. La colaboración con universidades también es útil, ya que algunos instrumentos sofisticados, como los necesarios para la resonancia magnética nuclear o la espectrometría de masas de alta resolución, no están disponibles para análisis de rutina en la mayoría de los laboratorios de ciencias forenses.

Figura II. Diagrama esquemático del aislamiento y la caracterización química de los nuevos cannabinoides sintéticos

8. Referencias bibliográficas

1. Auwärter, V., Dresen, S., Weinmann, W., Müller, M., Pütz, M. y Ferreiros, N., “Spice and other herbal blends: harmless incense or cannabinoid designer drugs?” *Journal of Mass Spectrometry*, 2009. 44(5): págs. 832 a 837.
2. Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawahara, N., Haishima, Y. y Goda, Y., “Identification of a cannabinoid analog as a new type of designer drug in a herbal product”. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo), 2009. 57(4): págs. 439 a 441.
3. Dresen, S., Ferreiros, N., Pütz, M., Westphal, F., Zimmermann, R. y Auwärter, V., “Monitoring of herbal mixtures potentially containing synthetic cannabinoids as psychoactive compounds”. *Journal of Mass Spectrometry*, 2010. 45(10): págs. 1186 a 1194.
4. EMCDDA, *Thematic Papers—Understanding the ‘Spice’ Phenomenon*, 2009; disponible en <http://www.emcdda.europa.eu/publications/thematic-papers/spice> (consultado por última vez el 17 de marzo de 2013).
5. Ernst, L., Schiebel, H.M., Theuring, C., Lindigkeit, R. y Beuerle, T., “Identification and characterization of JWH-122 used as new ingredient in ‘Spice-like’ herbal incenses”. *Forensic Science International*, 2011. 208(1-3): págs. e31 a e35.
6. Jankovics, P., Varadi, A., Tolgyesi, L., Lohner, S., Nemeth-Palotas, J. y Balla, J., “Detection and identification of the new potential synthetic cannabinoids 1-pentyl-3-(2-iodobenzoyl)indole and 1-pentyl-3-(1-adamantoyl)indole in seized bulk powders in Hungary”. *Forensic Science International*, 2012. 214(1-3): págs. 27 a 32.
7. Kneisel, S., Westphal, F., Bisel, P., Brecht, V., Broecker, S. y Auwärter, V., “Identification and structural characterization of the synthetic cannabinoid 3-(1-adamantoyl)-1-pentylindole as an additive in ‘herbal incense’”. *Journal of Mass Spectrometry*, 2012. 47(2): págs. 195 a 200.
8. Lindigkeit, R., Boehme, A., Eiserloh, I., Luebbecke, M., Wiggermann, M., Ernst, L. y Beuerle, T., “Spice: a never ending story?” *Forensic Science International*, 2009. 191(1-3): págs. 58 a 63.

9. Moosmann, B., Kneisel, S., Girreser, U., Brecht, V., Westphal, F. y Auwärter, V., "Separation and structural characterization of the synthetic cannabinoids JWH-412 and 1-[(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl]-(4-methylnaphthalen-1-yl) methanone using GC-MS, NMR analysis and a flash chromatography system". *Forensic Science International*, 2012. 220(1-3): págs. e17 a e22.
10. Nakajima, J., Takahashi, M., Nonaka, R., Seto, T., Suzuki, J., Yoshida, M., Kanai, C. y Hamano, T., "Identification and quantitation of a benzoylindole (2-methoxyphenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)methanone and a naphthoylindole 1-(5-fluoropentyl-1H-indol-3-yl)-(naphthalene-1-yl)methanone (AM-2201) found in illegal products obtained via the Internet and their cannabimimetic effects evaluated by in vitro [S-35]GTP gamma S binding assays". *Forensic Toxicology*, 2011. 29(2): págs. 132 a 141.
11. Nakajima, J., Takahashi, M., Seto, T., Kanai, C., Suzuki, J., Yoshida, M. y Hamano, T., "Identification and quantitation of two benzoylindoles AM-694 and (4-methoxyphenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)methanone, and three cannabimimetic naphthoylindoles JWH-210, JWH-122, and JWH-019 as adulterants in illegal products obtained via the Internet". *Forensic Toxicology*, 2011. 29(2): págs. 95 a 110.
12. Nakajima, J., Takahashi, M., Seto, T. y Suzuki, J., "Identification and quantitation of cannabimimetic compound JWH-250 as an adulterant in products obtained via the Internet". *Forensic Toxicology*, 2011. 29(1): págs. 51 a 55.
13. Nakajima, J., Takahashi, M., Seto, T., Yoshida, M., Kanai, C., Suzuki, J. y Hamano, T., "Identification and quantitation of two new naphthoylindole drugs-of-abuse, (1-(5-hydroxypentyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone (AM-2202) and (1-(4-pentenyl)-1H-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone, with other synthetic cannabinoids in unregulated 'herbal' products circulated in the Tokyo area". *Forensic Toxicology*, 2012. 30(1): págs. 33 a 44.
14. Uchiyama, N., Kawamura, M., Kikura-Hanajiri, R. y Goda, Y., "Identification and quantitation of two cannabimimetic phenylacetylindoles JWH-251 and JWH-250, and four cannabimimetic naphthoylindoles JWH-081, JWH-015, JWH-200, and JWH-073 as designer drugs in illegal products". *Forensic Toxicology*, 2011. 29(1): págs. 25 a 37.
15. Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R. y Goda, Y., "Identification of a novel cannabimimetic phenylacetylindole, cannabipiperidiethanone, as a designer drug in a herbal product and its affinity for cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors". *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* (Tokyo), 2011. 59(9): págs. 1203 a 1205.
16. Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Ogata, J. y Goda, Y., "Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products". *Forensic Science International*, 2010. 198(1-3): págs. 31 a 38.

17. Westphal, F., Sonnichsen, F.D. y Thiemt, S., "Identification of 1-butyl-3-(1-(4-methyl)naphthoyl)indole in a herbal mixture". *Forensic Science International*, 2012. 215(1-3): págs. 8 a 13.
18. Kneisel, S., Bisel, P., Brecht, V., Broecker, S., Müller, M. y Auwärter, V., "Identification of the cannabimimetic AM-1220 and its azepane isomer (N-methylazepan-3-yl)-3-(1-naphthoyl)indole in a research chemical and several herbal mixtures". *Forensic Toxicology*, 2012. 30(2): págs. 126 a 134.
19. Hudson, S. y Ramsey, J., "The emergence and analysis of synthetic cannabinoids". *Drug Testing and Analysis*, 2011. 3(7-8): págs. 466 a 478.
20. Howlett, A.C., *et al.*, "International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors". *Pharmacological Reviews*, 2002. 54(2): págs. 161 a 202.
21. Ernst, L., Krüger, K., Lindigkeit, R., Schiebel, H.M. y Beuerle, T., "Synthetic cannabinoids in 'spice-like' herbal blends: first appearance of JWH-307 and recurrence of JWH-018 on the German market". *Forensic Science International*, 2012. 222(1-3): págs. 216 a 222.
22. ACMD, "Consideration of the Major Cannabinoid Agonists". 16 de julio de 2009; disponible en <http://www.namsdl.org/documents/ACMDMajorCannabinoid-Report.pdf> (consultado por última vez el 17 de marzo de 2013).
23. Uchiyama, N., Kawamura, M., Kikura-Hanajiri, R. y Goda, Y., "Identification of two new-type synthetic cannabinoids, N-(1-adamantyl)-1-pentyl-1H-indole-3-carboxamide (APICA) and N-(1-adamantyl)-1-pentyl-1H-indazole-3-carboxamide (APINACA), and detection of five synthetic cannabinoids, AM-1220, AM-2233, AM-1241, CB-13 (CRA-13), and AM-1248, as designer drugs in illegal products". *Forensic Toxicology*, 2012. 30(2): págs. 114 a 125.
24. Ginsburg, B.C., McMahon, L.R., Sanchez, J.J. y Javors, M.A., "Purity of synthetic cannabinoids sold online for recreational use". *Journal of Analytical Toxicology*, 2012. 36(1): págs. 66 a 68.
25. Valoti, E., Casagni, E., Dell'acqua, L., Pallavicini, M., Roda, G., Rusconi, C., Straniero, V. y Gambaro, V., "Identification of 1-butyl-3-(1-(4-methyl)naphthoyl)indole detected for the first time in 'herbal high' products on the Italian market". *Forensic Science International*, 2012. 223(1-3): págs. e42 a e46.
26. Kavanagh, P., Grigoryev, A., Savchuk, S., Mikhura, I. y Formanovsky, A., "UR-144 in products sold via the Internet: Identification of related compounds and characterization of pyrolysis products". *Drug Testing and Analysis*, 2013 [publicación electrónica antes de la impresión].
27. Zuba, D., Byrska, B. y Maciow, M., "Comparison of 'herbal highs' composition". *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2011. 400(1): págs. 119 a 126.

28. Logan, B.K., Reinhold, L.E., Xu, A. y Diamond, F.X., "Identification of synthetic cannabinoids in herbal incense blends in the United States". *Journal of Forensic Science*, 2012. 57(5): págs. 1168 a 1180.
29. Kneisel, S., Westphal, F., Rösner, P., Ewald, A., Klein, B., Pütz, M., Thiemt, S. y Auwärter, V., "Cannabinoidmimetika: Massenspektren und IR-ATR-Spektren neuer Verbindungen aus den Jahren 2009/2010". *Toxichem Krimtech, Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie*, 2011. 78(1): págs. 23 a 35.
30. Musah, R.A., Domin, M.A., Walling, M.A. y Shepard, J.R., "Rapid identification of synthetic cannabinoids in herbal samples via direct analysis in real time mass spectrometry". *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2012. 26(9): págs. 1109 a 1114.
31. Kauppila, T.J., Flink, A., Haapala, M., Laakkonen, U.M., Aalberg, L., Ketola, R.A. y Kostianen, R., "Desorption atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry in routine analysis of confiscated drugs". *Forensic Science International*, 2011. 210(1-3): págs. 206 a 212.
32. Grabenauer, M., Krol, W.L., Wiley, J.L. y Thomas, B.F., "Analysis of synthetic cannabinoids using high-resolution mass spectrometry and mass defect filtering: implications for nontargeted screening of designer drugs". *Analytical Chemistry*, 2012. 84(13): págs. 5574 a 5581.
33. Hudson, S., Ramsey, J., King, L., Timbers, S., Maynard, S., Dargan, P.I. y Wood, D.M., "Use of high-resolution accurate mass spectrometry to detect reported and previously unreported cannabinomimetics in 'herbal high' products". *Journal of Analytical Toxicology*, 2010. 34(5): págs. 252 a 260.
34. Sekula, K., Zuba, D. y Stanaszek, R., "Identification of naphthoylindoles acting on cannabinoid receptors based on their fragmentation patterns under ESI-QTOFMS". *Journal of Mass Spectrometry*, 2012. 47(5): págs. 632 a 643.
35. Gottardo, R., Chiarini, A., Dal Pra, I., Seri, C., Rimondo, C., Serpelloni, G., Armato, U. y Tagliaro, F., "Direct screening of herbal blends for new synthetic cannabinoids by MALDI-TOF MS". *Journal of Mass Spectrometry*, 2012. 47(1): págs. 141 a 146.



UNODC

Oficina de las Naciones Unidas
contra la Droga y el Delito

Centro Internacional de Viena, Apartado postal 500, 1400 Viena, Austria
Tel.: (+43-1) 26060-0, Fax: (+43-1) 26060-5866, www.unodc.org

Publicación de las Naciones Unidas
Impreso en Austria



V.13-84937—Enero de 2014—300