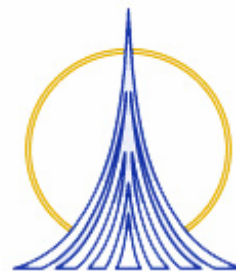




**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

TESINA

**IDENTIFICACIÓN DE CANNABIS SATIVA POR
CROMATOGRFÍA DE GASES ACOPLADA A
ESPECTROMETRÍA DE MASAS**

Que para obtener el título de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

**P R E S E N T A:
YOLANDA SANDOVAL ALONSO**

ASESOR DE TESINA

M. en C. RODOLFO CARREÓN SÁNCHEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	3
3. OBJETIVOS	4
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
5. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO	6
6. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO	7
7. TIPO DE ESTUDIO	7
8. MARCO TEÓRICO	8
8.1. CONCEPTOS.....	8
8.1.1.- Droga	9
8.1.2.- Drogas de abuso	9
8.1.3.- Uso, hábito, abuso y dependencia.....	10
8.1.4.- Clasificación de drogas que producen dependencia..	11
8.2. CANNABIS SATIVA	12
8.2.1.- Botánica.....	13
8.2.2.- Historia	13
8.2.3.- Farmacología	14
8.2.4.- Farmacocinética	16
8.2.5.- Química	17
8.2.6.- Metodologías analíticas	20
8.3. CROMATOGRAFÍA DE GASES	20
8.3.1.- Instrumentación	20
8.3.2.- Gas portador.....	21
8.3.3.- Sistema de inyección de la muestra	21
8.3.4.- Columnas y sistemas de control de temperatura.....	22
8.3.5.- Detectores.....	22
8.3.6.- Columnas y tipos de fases estacionarias.....	23
8.3.7.- Aplicaciones	25
8.4. ESPECTROMETRÍA DE MASAS.....	26
4.4.1.- Componentes de un espectrómetro de masas.....	27
4.4.2.- Sistema de introducción de la muestra.....	27
4.4.3.- Fuente de producción de iones.....	28
4.4.4.- Analizador de masas	31
4.4.5.- Aplicaciones	32
8.5. CROMATÓGRAFO DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE GASES	32
8.5.1.- Componentes de CG-EM.....	34
8.5.2.- Detectores.....	35
8.5.3.- Usos generales.....	36
8.5.4.- Aplicaciones.....	36
9.- DISCUSIÓN DE RESULTADOS	38
10.- CONCLUSIONES	40
11.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1. RESUMEN

En esta investigación se describen los aspectos físicos de la planta, origen, farmacología, farmacocinética y la composición química de la *Cannabis sativa* y sus derivados.

En segundo término se describen las técnicas que se utilizan para la identificación cuantitativa, como son la Cromatografía de Gases, Espectrometría de Masas y la fusión de estas técnicas.

2. INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la investigación realizada en México por la Encuesta Nacional de Adicciones, 1998, acerca de la prevalencia de consumo de sustancias adictivas, indica que la droga que se consume con mayor frecuencia en la zona metropolitana de la ciudad de México es la marihuana siguiéndole los disolventes volátiles, cocaína, alucinógenos y en menor medida heroína y sus derivados. Destacándose que los adolescentes son los que la consumen en mayor cantidad. La Ciudad de México ocupa el cuarto lugar del consumo de marihuana entre las ciudades del país.¹

Aunado a lo anterior, el uso de drogas ilícitas, se ha extendido en gran medida en los últimos años en nuestro país, lo cual vemos a partir de las noticias de todos los días y de los comentarios periodísticos que escuchamos o leemos.

Como es notable el aumento significativo de consumo de cocaína y marihuana entre jóvenes y considerando que un hecho conocido en varios países es que el aumento del uso de la marihuana se traduce progresivamente en un mayor consumo de otras drogas, hay quienes critican a los especialistas llamen a la marihuana la **droga de inicio** o **la puerta de entrada** hacia las otras drogas ilegales, pero las estadísticas no mienten, y la marihuana se muestra como el primer paso que responde a la decisión de experimentar con las sustancias que alteran la mente.

Las organizaciones de monitoreo como el Sistema de Vigilancia Epidemiológica de las Adicciones (SISVEA, 1994) recibió información de 5070 individuos que solicitaron atención médica urgente, de éstos, el 7% (357) acudieron encontrándose bajo los efectos de alguna sustancia. Con respecto a la mortalidad, el SISVEA notificó que de 3070 defunciones, el 22% se produjeron bajo los efectos de alguna droga, de las cuales relacionadas a la muerte fueron por causa de: arma de fuego, atropellamientos, choque de vehículos de motor, herida de arma blanca e intoxicados.²

Como el consumo de Cannabis se está continuamente incrementando, con frecuencia se detectan los cannabinoides en forma única o en combinación, con muestras biológicas tomadas de personas que se encuentren bajo la influencia de la droga, y también en personas que están involucradas con eventos medico-legales por ejemplo: asalto, asesinato, violación y accidentes de trabajo.³

Por todo lo anterior decidí elegir como tema la Identificación de *Cannabis sativa* por Cromatografía de Gases acoplado a la Espectrometría de Masas (CG-EM), ya que como se mencionó anteriormente se ha considerado a la marihuana como una droga de inicio a otras más.

Por lo cual se presenta información de *Cannabis sativa* y posteriormente la técnica de identificación y la de confirmación que sería esta última la de Cromatografía de Gases acoplada a la Espectrometría de Masas.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar una investigación monográfica acerca de la identificación de *Cannabis sativa* por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Búsqueda de información de *Cannabis sativa* y sus metabolitos, para su identificación cuantitativa
- Investigación de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas como técnica de confirmación de los metabolitos de *cannabis sativa*.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Trabajo desde hace 16 años dando clases de Química en el Colegio de Ciencias y Humanidades, plantel Oriente, que es nivel bachillerato, por lo que me relaciono directamente con adolescentes y además tengo dos hijos que también son adolescentes, lo cual me ha llevado a tratar de entender la problemática a la cual se enfrentan los jóvenes, encontrándome con que hay tres grandes problemas: adicciones, sexualidad y violencia, para darnos cuenta de esto bastaría que leyéramos el periódico en el lapso de un mes, además con respecto a las adicciones podemos encontrar noticias como:

“¿Cual es el significado de la fármacodependencia?”. Gaceta CCH: 7 de febrero del 2005.

“Emprenden medidas contra la venta de drogas en escuelas de Iztapalapa”. La jornada: 26 de febrero del 2005.

“¿Quiénes consumen marihuana?” Oriente informa: 2 de mayo del 2005.

“Con programa de radio, pretenden prevenir adicciones entre los niños”. La jornada: 8 de mayo del 2005.

“Alcoholismo, adicción permitida”. Oriente informa (órgano informativo del CCH Oriente): 3 de octubre del 2005.

“Alucinan por las bebidas energizantes”. El nacional: 7 de febrero del 2006.

“Se dispara la producción de cocaína por el aumento del consumo en Estados Unidos”. La jornada: 27 de febrero del 2006.

“El mercado de las drogas fomenta la corrupción y los conflictos en el mundo”. Gaceta UNAM: 18 de mayo del 2006.

“Aumenta el consumo de drogas entre los trabajadores menores, revela estudio”. La Jornada: 8 de julio del 2006.

“Padecen lesiones en la boca 40% de fumadores”. Gaceta UNAM: 17 agosto del 2006.

Por lo anterior al enterarme del diplomado, decidí inscribirme en él, ya que podría conocer más acerca del problema de las adicciones y de las metodologías de identificación, y así poder relacionarlo con mi profesión ya que sería de gran utilidad en mi trabajo con respecto a los alumnos adolescentes y con mis hijos. Al comprender más sobre esto lo puedo relacionar con mis cursos ya que en el segundo semestre, la Unidad II del programa de Química II, es de medicamentos, lo cual se relaciona con los fármacos y se podría introducir lo relacionado a la parte química de las drogas y además dar entrada a la parte de prevención de adicciones.

Por todo lo anterior en el presente trabajo se muestra el potencial y la importancia de la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas, ya que es ampliamente aceptada en las pruebas preliminares, así como para una rápida detección de drogas y a un relativo costo menor. Además los métodos son útiles para detectar y monitorear drogas además de confirmar y cuantificar de manera precisa.⁴

5.- IMPORTANCIA DEL ESTUDIO

Las primeras drogas usadas por los adolescentes son el alcohol, marihuana y cocaína respectivamente. Los adolescentes quienes usan drogas de una manera regular y frecuente son más afectados que los adultos que también las consumen, en periodos iguales de tiempo de consumo. El desarrollo integral en cuanto a lo social y lo emocional que normalmente se adquieren es obstaculizado cuando se abusa de las drogas, y como consecuencia el deterioro en su desarrollo psicosocial. Las drogas y el alcohol tienen implicaciones en accidentes de tráfico, problemas escolares, promiscuidad, crimen y suicidio.⁵

La detección de drogas de abuso en fluidos biológicos ha cobrado un auge muy importante, sin embargo diversos factores influyen en el resultado integral del tipo de análisis, por ejemplo: en el caso del análisis del metabolito de *cannabis*, que se había realizado previamente por otros métodos y se dieron a conocer los resultados, indicaban que eran positivas las muestras analizadas, y las cuales se procedió a su confirmación por CG – EM, resultando que el 77% de esas muestras realmente eran positivas y el resto (33%) fueron falsas y que presuntamente eran consideradas como positivas.⁶

Y por definición, todos los resultados que son positivos, serán realmente positivos con la técnica de CG-EM.⁷

Debido a que los resultados de estas pruebas constituyen la evidencia en los procesos legales del uso de una droga por un individuo, se hace necesario contar con un amplio sustento legal científico y de control de calidad que brinde validez contundente.

Por lo anterior se considera importante y necesario realizar el esfuerzo de destacar la importancia de la incorporación de la prueba confirmatoria en los esquemas de detección del consumo de drogas de abuso.

6. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

Para el desarrollo del trabajo monográfico, se recopilará información bibliográfica que proceda de México y EE.UU., del año 1991 al 2006.

7. TIPO DE ESTUDIO

Es un trabajo monográfico, descriptivo, retrospectivo y longitudinal

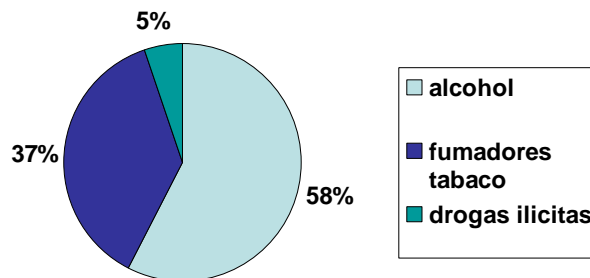
8.- MARCO TEÓRICO

8.1.- CONCEPTOS

El problema global y los patrones de abuso de drogas, alrededor del mundo están cambiando constantemente. Varían considerablemente sobre bases geográficas, de país a país y de región a región dentro del mismo país. Al mismo tiempo, la propagación del abuso de metanfetamina, por ejemplo, es causa concerniente a EU, Australia y sur-este de Asia, pero tiene menos impacto en el norte de Europa. Similarmente, los fumadores de tabaco han sido parcialmente declinados en el mundo del Medio oriente desde 1950 como esto tiene consecuencias a largo plazo en la salud, pero al mismo tiempo, se ha ido incrementando en otros países. La popularidad de las drogas individuales también varía con el tiempo. Por ejemplo, comparando su auge, el abuso del éter, barbitúricos y fenilciclidina se declina en largo plazo mientras que el abuso de alcohol, cocaína y éxtasis generalmente parece que va incrementándose.

Se ha estimado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) que en el año 2000 había cerca de 185 millones de consumidores globales de drogas ilícitas, 2 billones de usuarios de alcohol y 1.3 billones de fumadores de tabaco.⁸

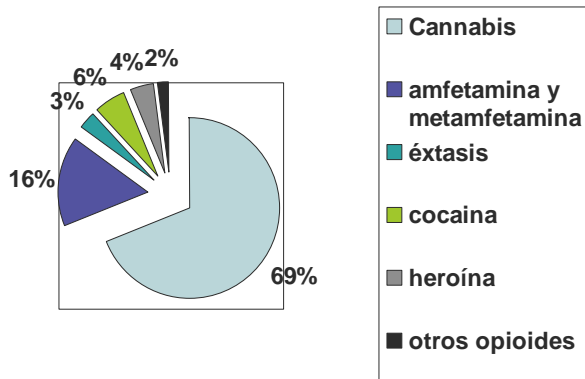
Abuso de Sustancias psicoactivas



Como una proporción en carga de enfermedades, las drogas ilícitas tienen gran impacto en los países desarrollados –en el oeste y norte de Europa, Norteamérica y Australia, y se tiene menos impacto en África central y del sur.

La prevalencia anual de las drogas ilícitas individuales tiene una proporción total de usuarios como se muestra en la siguiente figura:

Drogas ilícitas



Prevalencia anual de las drogas de abuso ilícitas en el periodo de 1998 a 2001.

El consumo de diversos tipos de drogas ha sido una constante observada desde la antigüedad en numerosos pueblos y culturas. Pero el fenómeno de la drogadicción sólo ha alcanzado una extraordinaria importancia, por su difusión, consecuencias sociales y sanitarias, en las últimas décadas: Esta expansión se encuentra enmarcada en las propias características de la sociedad industrial y de consumo. En los últimos dos siglos el hombre ha pasado de sólo recolectar las plantas silvestres, cuyo consumo tiene consecuencias a nivel de su psique, a obtener y estudiar sus principios activos, purificar dichos principios activos, modificar sus estructuras químicas para aumentar sus efectos, cultivar estas plantas para lograr una gran producción y, finalmente, sintetizar en el laboratorio moléculas afines con el propósito de crear componentes de mayor acción y abaratar los costos de su fabricación.⁹

8.1.1.- DROGA

El término droga es amplio y ambiguo. Se utilizó en la farmacología clásica para designar a un medicamento en estado bruto, tal como aparece en la naturaleza. Para otros designa un producto que se deriva de algún tipo de manipulación química. En 1969 la Organización Mundial de la Salud (OMS), manteniendo un criterio clínico, la definió como “toda sustancia que, introducida en un organismo vivo, pueda modificar una o varias de sus funciones”. De esta manera, droga viene a ser sinónimo de fármaco y así continua utilizándose en la literatura inglesa.

8.1.2.- DROGAS DE ABUSO

En 1982 la OMS intentó delimitar cuáles serían las sustancias que producían dependencia y declaró como droga de abuso “aquella de uso no médico, con efectos psicoactivos (capaz de producir cambios en la percepción, el estado de ánimo, la conciencia y el comportamiento) y susceptible de ser auto administrada”.⁹

8.1.3.- USO, HÁBITO, ABUSO Y DEPENDENCIA

El **uso** de una sustancia no tiene ninguna significación clínica ni social, es decir, el término uso significa sencillamente consumo, utilización, gasto de una sustancia sin que se produzcan efectos médicos, sociales, familiares, etc. En ausencia de otras especificaciones debe entenderse un consumo aislado, ocasional, episódico, sin tolerancia o dependencia.

El **hábito** sería la costumbre de consumir una sustancia por habernos adaptado a sus efectos. Hay, por tanto, un deseo del producto, pero nunca se vivencia de manera imperiosa. No existe una tendencia a aumentar la dosis ni se padecen trastornos físicos o psicológicos importantes cuando la sustancia no se consigue. La búsqueda de la sustancia es limitada y nunca significa una alteración conductual.⁹

El término "**abuso**" es típicamente usado para describir la auto administración no médica de una sustancia para producir efectos psicoactivos, intoxicación o imagen alterada del cuerpo y usualmente a pesar del conocimiento de los riesgos que involucran. El término es ampliamente aplicado a situaciones en las cuales las drogas ilícitas son tomadas.⁸

El **abuso de drogas** podría definirse como un uso indebido recurrente, que expone al consumidor al hábito de la droga y de allí al peligro de caer en la **farmaco dependencia**.¹⁰

En 1982, la OMS define la **dependencia** como "síndrome caracterizado por un esquema de comportamiento en el que establece una gran prioridad para el uso de una o varias sustancia(s) psicoactiva(s) determinada(s), frente a otros comportamientos considerados habitualmente como más importantes".⁹

Se enfatiza, desde la OMS y la Asociación Americana de Psiquiatría (Association Psychiatry American, APA) que la dependencia da lugar a una pérdida total de libertad pues la persona se encuentra supeditada, controlada, en definitiva, esclavizada por la droga; en otras palabras, la droga se convierte en un objeto autoritario que absorbe la personalidad del sujeto.

Clásicamente se han descrito **dos tipos de dependencia**: 1) la física y 2) la psicológica. En la actualidad se añade **un tercer tipo**: 3) la social. Cada una de ellas presenta unas manifestaciones sintomáticas propias y viene determinada por unas causas específicas.⁹

1) Dependencia física. También recibe el nombre de neuroadaptación, es un estado caracterizado por la necesidad de mantener niveles determinados de una droga en el organismo, desarrollándose un vínculo droga-organismo. Sus dos componentes principales son: la tolerancia y el síndrome de abstinencia agudo.

Tolerancia: Consiste en la resistencia desarrollada por el organismo a los efectos de la droga. A medida que el cuerpo se va acostumbrando a la droga, para alcanzar los mismos efectos necesita dosis cada vez mayores. La tolerancia se desarrolla dependiendo de: tipo de sustancia, dosis, frecuencia de uso, modo de aplicación y la capacidad de resistencia de cada organismo.¹⁰

Síndrome de abstinencia o de retirada: es cuando la administración de la droga se suspende bruscamente o se administra una sustancia antagonista, es decir, se rompe el vínculo droga-organismo. Se caracteriza por manifestaciones más o

menos agudas de una serie de signos y síntomas físicos y psíquicos de gravedad y perfil variable, según la droga, los cuales ceden con la administración de la droga o con sustitutos farmacológicos que amortiguen el vacío a nivel de neuroreceptores que se produce.

2) Dependencia psicológica. Viene determinada por el deseo irresistible o estado de anhelo (“craving”) de repetir la administración de una droga para:

- a) obtener la vivencia de sus efectos agradables, placenteros y/o evasivos (sedación, euforia, alucinaciones), o/y
- b) evitar el malestar que se siente con su ausencia.

Por tanto son las actividades de búsqueda de la droga por parte de la persona y la asociación de patrones de consumo patológico las que condicionan la dependencia.

3) Dependencia social. Viene determinada por la necesidad de consumir la droga como signo de pertenencia a un grupo social que proporciona una clara señal de identidad personal.

8.1.4.- CLASIFICACIÓN DE LAS DROGAS QUE PRODUCEN DEPENDENCIA

Existen muchos criterios para clasificar las drogas capaces de producir dependencia. Hay diferencias notables en los criterios para enmarcar los tipos de sustancias atendiendo a su capacidad adictiva, a la acción que ejercen en el organismo, a las respuestas que provocan en la psique, etc.

Una clasificación básica es aquella que se atiene a los efectos psicopatológicos más importantes e inmediatos de las sustancias. Tres son los grupos que se pueden establecer:^{9, 10}

1.- **Drogas depresoras** (psicolépticas), éstas retardan la actividad nerviosa y disminuyen el ritmo de las funciones corporales, sus representantes más notorios son el alcohol, la heroína, las benzodiacepinas, los disolventes volátiles.

2.- **Drogas estimulantes** (psicoanalépticos), éstas excitan la actividad nerviosa e incrementan el ritmo de las funciones corporales; sus representantes fundamentales son la cocaína, las amfetaminas y el tabaco.

3.- **Drogas alucinógenas** (psicodislépticos), las cuales producen un estado de conciencia alterado, deforman la percepción y evocan imágenes sensoriales sin entrada sensorial; sus representantes más característicos son la dietil amida del ácido lisérgico (LSD), el cannabis y las drogas de diseño.⁹

En esta clasificación se consideran a los cannabinoides en el grupo de alucinógenos, pero, la marihuana es ambivalente, a la vez estimulante y tranquilizante, pero puede provocar distorsión sensorial y en casos raros, alucinaciones.¹⁰ También, la marihuana puede producir alucinaciones cuando se consume en altas dosis o por sujetos especialmente predispuestos, por lo común no ocurre así, Eso basta para darle un lugar aparte porque, además, a veces deprime, a veces estimula, y en ocasiones produce estados no asimilables a ninguno de estos dos efectos.²

Una clasificación que sugiere la OMS⁹ desde 1975:

- Grupo 1.- Opiáceos: opio y derivados naturales, semisintéticos o Sintéticos, morfina, heroína, metadona, etc.
- Grupo 2.- Psicodépresores: barbitúricos, benzodiacepinas y análogos.
- Grupo 3.- Alcohol etílico.
- Grupo 4.- Psicoestimulantes mayores: cocaína, y derivados (crack), amfetaminas y derivados, katina o norpseudoefedrina, etc.
- Grupo 5.- Alucinógenos: LSD, mezcalina, psilocibina, y otros.
- Grupo 6.- Cannabis y sus derivados: marihuana, hachís.
- Grupo 7.- Inhalantes: solventes volátiles como tolueno, acetona, gasolinas, éter, óxido nitroso, etc.
- Grupo 8.- Psicoestimulantes menores: tabaco, infusiones con cafeína, colas, etc.
- Grupo 9.- Drogas de diseño

8.2.- CANNABIS SATIVA

Se trata de una planta de origen asiático que puede actuar como alucinógeno en función de la dosis y que en la actualidad se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo.

Se reconocen tres especies:

- 1.- *Cannabis indica*
- 2.- *Cannabis ruderalia*
- 3.- *Cannabis sativa*

Ésta última se conoce como: hachís, bhang, ganga, dogga, entre otras.

De la planta *Cannabis sativa* derivan la marihuana y el hachís.

La marihuana está compuesta de las hojas y las flores secas de la planta, que se fuman generalmente en forma de cigarrillo, y contiene más de 400 ingredientes químicos activos, de los cuales 70 son cannabinoides, y se considera que puede llegar a contener hasta 3% de tetrahidrocannabinol (THC) su principal componente activo.

El hachís es una pasta de resina endurecida que se obtiene machacando los tallos, hojas y flores, y contiene hasta 28% de THC.

El aceite de hachís se extrae de la pasta mediante destilación. Éste último es mucho más fuerte que la marihuana por tener mayor concentración de THC que es del 43%. Unas gotas de aceite de hachís muy concentradas que se fumen mezcladas con el tabaco de un cigarrillo normal pueden producir efectos mucho más potentes que varios cigarrillos de marihuana.^{1, 10}



8.2.1.- BOTANICA

La marihuana pertenece al orden Urticales en el que se incluyen las familias Ulmáceas, Urticáceas y Moráceas. Las Cannabináceas, a la que pertenece *Cannabis*, se considera como una subfamilia de las Moráceas, las cannabinoideas.

Son de género dioico (flores imperfectas – tienen órgano femenino o masculino- que se encuentran en diferentes individuos).¹¹

La *Cannabis sativa* es una planta anual herbácea, típica de zonas templadas, aunque su cultivo salvaje está muy extendido. La planta posee una altura de 1.5 a 6 m, siendo las plantas hembra más frondosas y duraderas. Normalmente, las hojas están dispuestas en forma de palma (con unas 5 – 7 hojas por palma), con las más grandes en el centro. Cada hoja es alargada y con el borde dentado, de color verde oscuro, en contraste con el color más claro del envés. La superficie de las hojas está cubierta por unos pelos secretores, más numerosos en el envés.⁹

8.2.2.- HISTORIA

El uso de *Cannabis sativa* se ha registrado por miles de años, especialmente en los países orientales como China e India. Se ha comprobado que la conocían los griegos en la plenitud de su civilización, así como en las naciones árabes un poco más tarde.¹²

También durante la Edad Media y debido a la expansión musulmana hacia el sur, se introdujo esta planta en África, llegando hasta el extremo sur del continente. Su uso se extendió por Europa a partir de las campañas napoleónicas en Egipto.

Al continente americano llegó de manos de los españoles en la primera mitad del siglo XVII. Se intentó su cultivo en Colombia, Perú, México y Chile, siendo ésta la única nación que desarrolló capacidad para exportar cáñamo a España, introdujo la planta en Canadá y en algunas zonas de estados Unidos en esas mismas fechas.⁹

Durante la Revolución Mexicana se vuelven a encontrar referencias acerca de su uso entre los soldados revolucionarios, e inclusive en numerosos corridos populares se hace alusión a su consumo.

Ciertos grupos indígenas de México en los estados de Veracruz, Hidalgo y Puebla practicaban una ceremonia curativa con una planta que era llamada Santa Rosa, identificada posteriormente como *Cannabis sativa*, a la que se le considera como intermediario sagrado con la virgen. Aunque la ceremonia basaba principalmente en elementos cristianos la planta es muy venerada ya que se pensaba que tenía vida y representaba parte del corazón de Dios. Los participantes de dicho culto creían que la planta podía ser peligrosa ya que podía tomar la forma de alma humana, enfermar a una persona hasta traerle la muerte.

Con la guerra de Vietnam cobra auge el uso de esta droga en los Estados Unidos, fenómeno que se transmite a nuestro país tomando características de abuso, pues se utiliza con el fin de intoxicarse, escapar de la realidad y del proceso de desarrollo individual, huyendo del enfrentamiento con la vida.

En la década de los sesenta en adelante la marihuana pasó a convertirse en una droga de abuso universal: todo ello a pesar del gran despliegue de recursos empleados en las diferentes campañas antidroga.

Se ha estudiado también con fines terapéuticos para tratar diversas patologías como el glaucoma, el reumatismo, la hipertensión arterial y el control de náusea en pacientes sometidos a tratamiento de cáncer.

Actualmente es la planta que más se utiliza con fines de intoxicación y una de las que hasta el momento ocupa el mayor consumo de adicción en jóvenes mexicanos.¹³

8.2.3.- FARMACOLOGÍA

Las preparaciones de la planta *Cannabis sativa* (marihuana, hachís) han sido utilizadas con fines medicinales y/o recreativos desde hace mucho tiempo y por diversos tipos de culturas.

Desde el punto de vista de su uso y abuso con fines recreacionales, el cannabis actualmente se encuentra entre las tres drogas más ampliamente utilizadas, junto con el alcohol y el tabaco, siendo habitual que su consumo se realice a menudo junto con el de otras drogas. “EL CANNABIS ES LA DROGA ILEGAL MÁS CONSUMIDA” según el último informe (año 2001) del Plan Nacional sobre Drogas acerca de la situación del consumo de derivados del cannabis en España⁹.

Desde el punto de vista de su potencial terapéutico, merece destacarse que los cannabinoides, tanto sintéticos como naturales (derivados de la *Cannabis sativa* o

presentes en organismos animales), se han revelado como interesantes sustancias medicamentosas en algunos tipos de patologías, con la particularidad de que algunas de ellas carecen de tratamientos farmacológicos eficaces.

El tetrahidrocannabinol (THC) actúa fundamentalmente en el SNC, donde ocasiona una combinación de efectos psicotomiméticos (sustancia que es capaz de imitar la psique) y depresores junto con diversos efectos autónomos periféricos mediados por el SNC.¹⁴

En el ser humano, los efectos subjetivos más importantes son:

- Sensación de relajación y bienestar, similar al efecto del etanol, pero sin la agresividad que acompaña a éste.
- Sensación de conciencia sensorial aguda, de forma que los sonidos y las imágenes parecen más intensas y fantásticas.

Los efectos son similares, aunque probablemente menos pronunciados, a los de las sustancias psicotomiméticas del tipo del LSD (dietilamida del ácido lisérgico). Las personas sienten que el tiempo pasa con gran lentitud. Las sensaciones de alarma y los delirios paranoides, frecuentes con el LSD, son raros con el cannabis. Los efectos centrales pueden medirse directamente en el ser humano y en los animales de experimentación y consisten en:¹⁴

- Alteración de la memoria reciente y las tareas de aprendizaje sencillas, sensación subjetiva de seguridad y de aumento de la creatividad que no se traduce en una mejoría real del rendimiento.
- Alteración de la coordinación motora (por ej., conducción de vehículos)
- Catalepsia con mantenimiento de posturas fijas poco naturales
- Analgesia
- Acción antiemética
- Aumento del apetito

Los principales efectos periféricos del cannabis comprenden:¹⁴

- Taquicardia, que puede evitarse con fármacos que bloqueen la transmisión sináptica.
- Vaso dilatación, especialmente notable en los vasos conjuntivales y de la esclerótica y que produce el aspecto congestivo característico de los fumadores de cannabis.
- Reducción de la presión intraocular
- Bronco dilatación

8.2.4.- FARMACOCINÉTICA

Las vías de administración más utilizadas en el humano son la ingestión y la inhalación, siendo ésta última la de mayor difusión en nuestro medio y la que consigue que se produzcan los efectos psicotomiméticos más rápidamente.

Tras inhalar el humo de un cigarrillo de marihuana o de hachís, los niveles plasmáticos de THC llegan al máximo (alrededor de 100 ng/ml) en pocos minutos, desapareciendo rápidamente, lo que pone de manifiesto un importantísimo fenómeno de redistribución. Los efectos subjetivos también son inmediatos, alcanzando un máximo a los 20-30 minutos de la administración y pudiendo durar 2-3- horas.

Sólo el 3% del Δ^9 -THC presente en sangre circula libre. Dada su elevada hidrofobicidad se une a diferentes componentes plasmáticos. Un 9% está unido a las células sanguíneas, otro 60% lo está a las lipoproteínas plasmáticas y el resto a la albúmina. Esta propiedad explica su rápida penetración en los tejidos, sobre todo en aquellos que están altamente vascularizados: pulmón, hígado, riñón, corazón, estómago, bazo, tejido adiposo, placenta, corteza adrenal, tiroides, pituitaria y glándula mamaria. Posteriormente pasa al tejido adiposo, que junto con el bazo son sus principales depósitos tres días después de su ingesta. La droga puede tardar varias semanas en ser totalmente eliminada tras el cese de su administración. Su retención en estos reservorios hidrofóbicos amortigua la penetración del THC en el cerebro, donde su concentración y la de sus metabolitos son más bajas.

El THC y su metabolito, el 11-hidroxi-THC son los que en mayor proporción se acumulan en los tejidos, y cabe señalar que éste metabolito es en realidad más activo que el THC.

Una parte del THC aparece conjugada con ácidos grasos, sobre todo en la fase final del almacenamiento. La paulatina liberación del THC, desde estos almacenes tisulares a la sangre, retarda la caída de los niveles plasmáticos de este compuesto, tras el cese de su administración. Esto prolonga su presencia en sangre y la posterior entrada al cerebro, lo que podría explicar las dificultades para identificar un síndrome de abstinencia a esta droga, tras la suspensión de su administración.

La eliminación del THC se produce principalmente mediante sus metabolitos en heces (68%) o en orina (12%), aunque también lo hace a través del pelo, saliva y el sudor. La mayor parte del metabolismo ocurre en el hígado, aunque también puede producirse en otros órganos como el pulmón y el intestino.

En orina se detecta la presencia de 11-hidroxi-THC y hay una elevada concentración de otros metabolitos que son ácidos, uno de ellos es el ácido 11-nor- Δ^9 -THC-carboxílico. En la figura 1 se muestra la estructura química de estos metabolitos.

El retraso de la aparición de los efectos psicológicos y cardiacos del THC con respecto a la elevación de sus niveles en plasma puede estar relacionado con la más tardía aparición en sangre de la máxima concentración de 11-hidroxi-THC. Al

tratarse de un compuesto psicoactivo, su presencia en cerebro potenciaría los efectos iniciados por el THC.

El 11-nor- Δ^9 -THC-carboxílico se detecta algunos minutos después de la finalización del consumo y su concentración crece lentamente hasta que alcanza una meseta durante un periodo prolongado de tiempo, pudiendo llegar a superar hasta 5 veces los niveles de THC. El máximo nivel se alcanza entre 30 min y una hora después de haberlo fumado.^{9, 15}

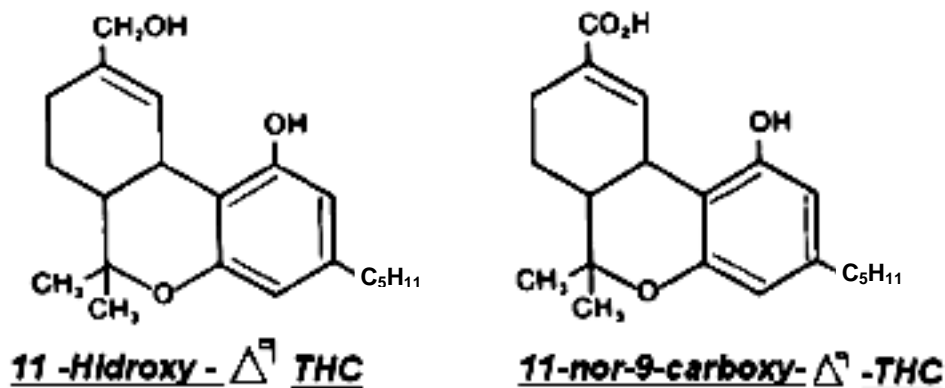


Figura 1. Metabolitos del THC

8.2.5.- QUÍMICA

Los cannabinoides son sustancias que suelen tener una estructura carbocíclica con 21 carbonos y están formados generalmente por tres anillos, ciclohexeno, tetrahidropirano y benceno. Los principales cannabinoides son Δ^9 -Tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC o THC), Δ^8 -tetrahidrocannabinol (Δ^8 -THC), el cannabidiol (CBD) y el cannabinoil (CBN) (figura 2). Otros cannabinoides presentes en la planta son el cannabícromeno (CBC), el cannabíciclol (CBL), el cannabigerol (CBG), el monometiléter del cannabigerol (CBGM), la cannabielsoina (CBE), el cannabinoilol (CBND), el cannabitriol (CBT), el deshidrocannabifurano y el cannabifurano, que aparecen en cantidades diferentes según la variedad de cannabis sativa valorada.¹⁵

El Δ^9 -THC es el cannabinoide con mayor potencia psicoactiva.

El Δ^8 -THC tiene un perfil farmacológico muy parecido al del Δ^9 -THC, aunque sus efectos son más débiles. Sólo aparece en algunas variedades de la planta y su concentración es muy pequeña en comparación con la del Δ^9 -THC.^{9, 15}

El cannabinoil (CBN) es un metabolito resultante de la oxidación del Δ^9 -THC y también tiene propiedades psicoactivas, que son aproximadamente una décima parte de las descritas para el THC.

El cannabidiol (CBD) es un compuesto bicíclico, al estar el anillo de tetrahidropirano separado. Es un cannabinoide prácticamente desprovisto de

propiedades psicoactivas, por lo que se están investigando sus posibles efectos clínicos. Así, el tratamiento con CBD atenúa algunas de las alteraciones psicológicas inducidas por altas dosis de THC (0.5 mg/Kg), como por ejemplo los sentimientos de ansiedad y de pánico.¹⁵

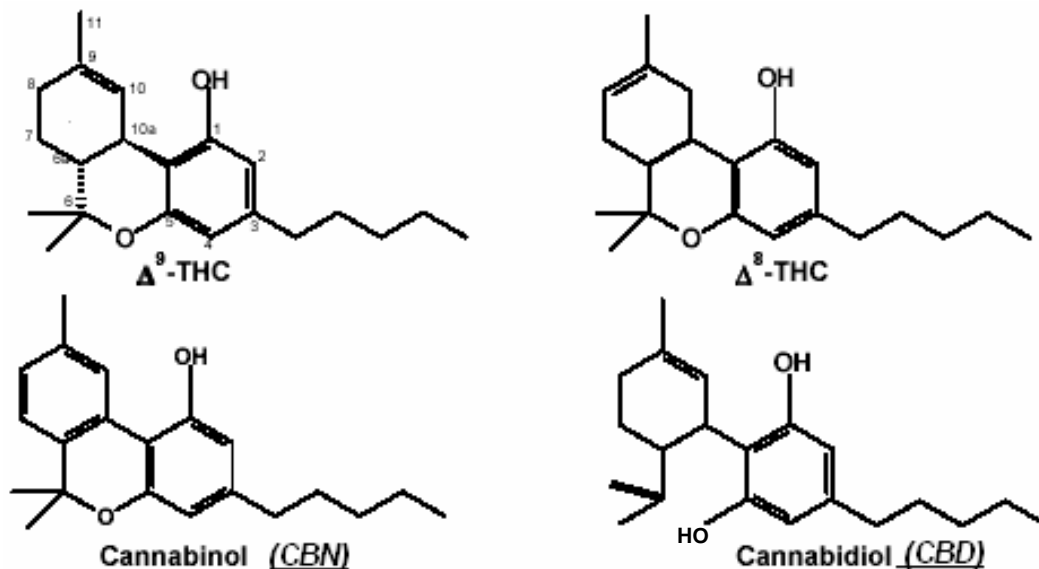


Figura 2 Estructura química de los cannabinoides naturales más importantes.

RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

El conocimiento de las relaciones existentes entre la estructura y la actividad de los cannabinoides ha permitido el diseño de compuestos análogos que han sido de gran utilidad en el estudio farmacológico y fisiológico de estas sustancias.^{9,15}

En algunos casos, se han modificado por el marcado carácter hidrofóbico de los cannabinoides para aumentar su solubilidad en agua. Otras veces, se ha aumentado la afinidad por su receptor. Además, las sucesivas modificaciones de su estructura han permitido la preparación de derivados relacionados con alguna de las acciones atribuidas a estos compuestos, evitando las relacionadas a sus efectos psicotrópicos.

Así, en relación con los efectos analgésicos de los cannabinoides se diseñaron análogos sintéticos tetracíclicos, como el levonantradol y bicíclicos, como el (-)-CP-55,940 (figura 3). Este último compuesto ha sido utilizado para la caracterización del receptor de cannabinoides. Otros cannabinoides sintéticos con propiedades terapéuticas son la nabilona y el naboctato. El primero posee, en el carbono nueve, un grupo cetónico en lugar de un metilo, lo que le confiere un apreciable efecto antiemético. En el segundo, la presencia de un grupo dietil-etilamino esterificado en el hidroxilo fenólico, implica la reducción de la presión intraocular. El 11-hidroxi- Δ⁸-THC-DMH (HU-210) es el cannabinoide sintético más potente de los actualmente conocidos. Esta propiedad esta relacionada con la presencia de un grupo hidroxilo en C-11 y de 1,1-dimetilheptilo en su cadena

lateral. Su elevada potencia fue clave para la caracterización de la andamida, que ha sido el primer cannabinoide endógeno aislado del cerebro.¹⁵ Los aminoalquilindoles no están relacionados estructuralmente con los cannabinoides, pero muestran un perfil farmacológico cannabimimético. Uno de ellos, es el WIN-55212-2, se une al receptor de cannabinoides, inhibiendo la actividad de la adenilato ciclasa, por lo que se ha utilizado en la caracterización de este receptor.¹⁵

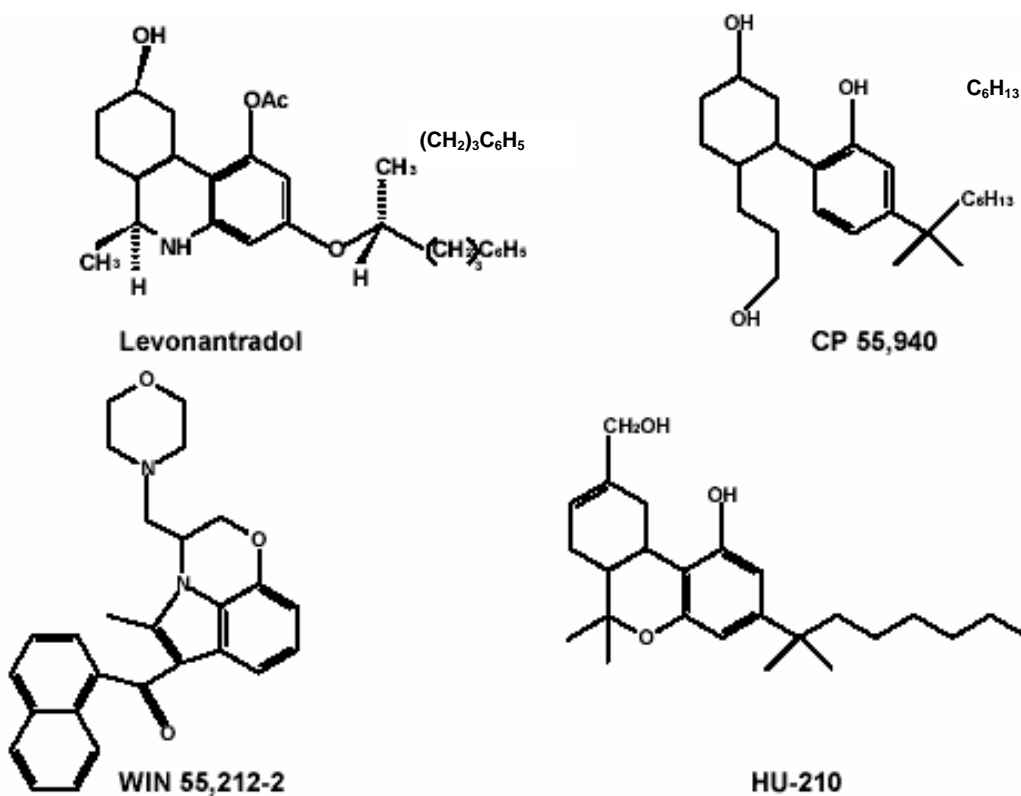


Figura 3 Estructura química de los cannabinoides sintéticos más representativos.

8.2.6.- METODOLOGÍAS ANALÍTICAS

Reacciones coloreadas

Las reacciones se realizan sobre un extracto que se obtiene por maceración en éter de petróleo (20% p/v).¹⁶

REACCIONES	COLORACIONES QUE SE OBSTINEN
GHAMRAVY	Rojo púrpura que vira a azul violeta que vira por adición de agua
DOQUENOIS	Azul violeta que vira a violeta por adición de cloroformo
BEAM	Violeta púrpura

Espectro ultravioleta.¹⁶

Una solución etanólica de cannabis da máximos de absorción a:

- 278 nm para Δ^9 -THC y CBD
- 285 nm para el CBN

Cromatografía en capa fina.¹⁶

Soporte: gel de sílice (pulverizar la placa con dietilamina antes de la utilización).

Testigos: cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN)

Fase móvil: xileno, hexano, dietilamina (25/10/1)

8.3.- CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía de gases es una técnica donde la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte. A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases (CG): la cromatografía gas-sólido (CGS) y la cromatografía gas-líquido (CGL), siendo esta última la que se utiliza más ampliamente, y que se puede llamar simplemente cromatografía de gases (CG). En la CGS la fase estacionaria es sólida y la retención de los analitos en ella se produce mediante el proceso de adsorción. Precisamente este proceso de adsorción, que no es lineal, es el que ha provocado que este tipo de cromatografía tenga aplicación limitada, ya que la retención del analito sobre la superficie es semipermanente y se obtienen picos de elución con colas. Su única aplicación es la separación de especies gaseosas de bajo peso molecular. La CGL utiliza como fase estacionaria moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de un sólido inerte.

8.3.1.- Instrumentación

La CG se lleva a cabo en un cromatógrafo de gases. Éste consta de diversos componentes como el gas portador, el sistema de inyección de muestra, la columna (generalmente dentro de un horno), y el detector. (Figura: 4)

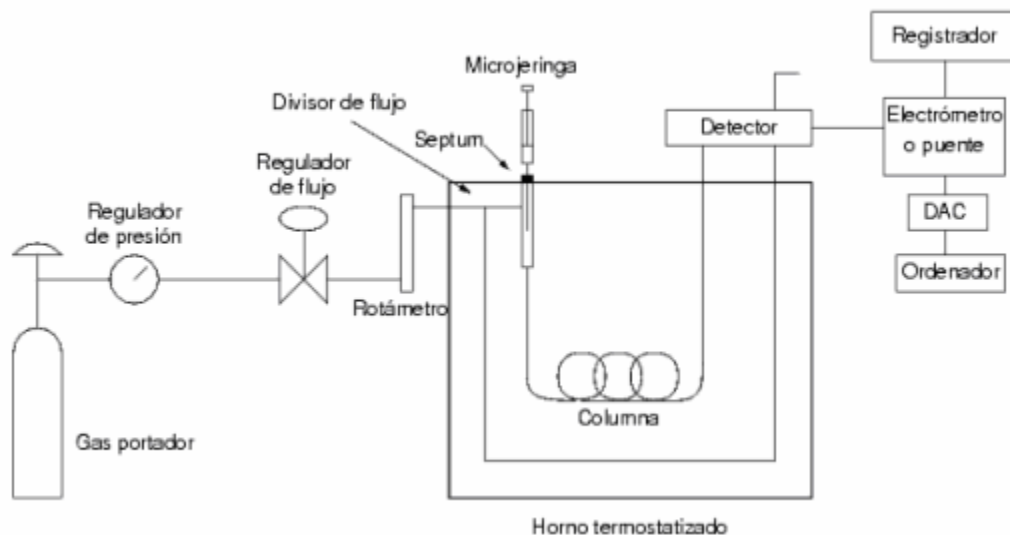


Figura: 4 Diagrama de un cromatógrafo de gases

8.3.2.- Gas portador

El gas portador debe ser un gas inerte, para prevenir su reacción con el analito o la columna. Generalmente se emplean gases como el helio, argón, nitrógeno, hidrógeno o dióxido de carbono, y la elección de este gas en ocasiones depende del tipo de detector empleado. El almacenaje del gas puede ser en balas normales o empleando un generador, especialmente en el caso del nitrógeno y del hidrógeno. Luego tenemos un sistema de manómetros y reguladores de flujo para garantizar un flujo estable y un sistema de deshidratación del gas, como puede ser un tamiz molecular.

Generalmente la regulación de la presión se hace a dos niveles: un primer manómetro se sitúa a la salida de la bala o generador del gas y el otro a la entrada del cromatógrafo, donde se regula el flujo. Las presiones de entrada varían entre 10 y 25 psi, lo que da lugar a caudales de 25 a 150 mL/min en columnas de relleno y de 1 a 25 mL/min en columnas capilares. Para comprobar el caudal se puede utilizar un rotámetro o un simple medidor de pompas de jabón, el cual da una medida muy exacta del caudal volumétrico que entra a la columna.

-Psi: unidad de presión cuyo valor equivale a 1 libra por pulgada cuadrada (Pounds per Square Inch).

8.3.3.- Sistema de inyección de muestra

La inyección de muestra es un apartado crítico, ya que se debe inyectar una cantidad adecuada, y debe introducirse de tal forma (como un "tapón de vapor") que sea rápida para evitar el ensanchamiento de las bandas de salida; este efecto se da con cantidades elevadas de analito. El método más utilizado emplea una microjeringa (de capacidades de varios microlitros) para introducir el analito en una cámara de vaporización instantánea. Esta cámara está a 50°C por encima del

punto de ebullición del componente menos volátil, y está sellada por una junta de goma de silicona septa o septum.

Si es necesaria una reproducibilidad del tamaño de muestra inyectado se puede usar una válvula de seis vías o válvula de inyección, donde la cantidad a inyectar es constante y determinada por el tamaño del bucle de dicha válvula.

Si la columna empleada es ordinaria, el volumen a inyectar será de unos 20 μL , y en el caso de las columnas capilares dicha cantidad es menor, de 10^{-3} μL . Para obtener estas cantidades, se utiliza un divisor de flujo a la entrada de la columna que desecha parte del analito introducido.

En caso de muestras sólidas, simplemente se introducen en forma de disolución, ya que en la cámara de vaporización instantánea el disolvente se pierde en la corriente de purga y no interfiere en la elución.

8.3.4.- Columnas y sistemas de control de temperatura

En CG se emplean dos tipos de columnas: las empaquetadas o de relleno y las tubulares abiertas o capilares. Estas últimas son más comunes debido a su mayor rapidez y eficiencia. La longitud de estas columnas es variable, de 2 a 50 metros, y están construidas en acero inoxidable, vidrio, sílice fundida o teflón. Debido a su longitud y a la necesidad de ser introducidas en un horno, las columnas suelen enrollarse en una forma helicoidal con diámetros de 10 a 30 cm, dependiendo del tamaño del horno.

La temperatura es una variable importante, ya que de ella va a depender el grado de separación de los diferentes analitos. Para ello, debe ajustarse con una precisión de décimas de grado. Dicha temperatura depende del punto de ebullición del analito o analitos, y por lo general se ajusta a un valor igual o ligeramente superior a él. Para estos valores, el tiempo de elución va a oscilar entre 2 y 30-40 minutos. Si tenemos varios componentes con diferentes puntos de ebullición, se ajusta la llamada rampa de temperatura con lo cual ésta va aumentando ya sea de forma continua o por etapas. En muchas ocasiones, el ajustar correctamente la rampa puede significar separar bien o no los diferentes analitos. Es recomendable utilizar temperaturas bajas para la elución, pero conforme la temperatura es mayor la elución es más rápida, pero se corre el riesgo de descomponer el analito.

8.3.5.- Detectores

El detector es la parte del cromatógrafo que se encarga de determinar cuándo ha salido el analito por el final de la columna. Las características de un detector ideal son:

- Sensibilidad: Es necesario que pueda determinar con precisión cuándo sale el analito y cuando sale sólo el gas portador. Tienen sensibilidades entre 10⁻⁸ y 10⁻¹⁵ g/s de analito.
- Respuesta lineal al analito con un rango de varios órdenes de magnitud.
- Tiempo de respuesta corto, independiente del caudal de salida.
- Intervalo de temperatura de trabajo amplio, por ejemplo desde temperatura ambiente hasta unos 350-400°C, temperaturas típicas de trabajo.
- No debe destruir la muestra.
- Estabilidad y reproducibilidad, es decir, a cantidades iguales de analito debe dar salidas de señal iguales.
- Alta fiabilidad y manejo sencillo, o a prueba de operadores inexpertos.
- Respuesta semejante para todos los analitos, o respuesta selectiva y altamente predecible para un reducido número de analitos.

Algunos tipos de detectores:

Detector de ionización de flama (FID, Flame Ionization Detector).

Detector de conductividad térmica (TCD, Thermal Conductivity Detector).

Detector termoiónico (TID, Thermionic Detector).

Detector de captura de electrones (ECD, Electron-Capture Detector).

Detector de emisión atómica (AED, Atomic Emission Detector).

Detector fotométrico de flama (PFD Photometric Flame Detector).

8.3.6.- Columnas y tipos de fases estacionarias

Columnas de relleno

Las columnas de relleno consisten en unos tubos de vidrio, metal (inerte a ser posible como el acero inoxidable, cobre o aluminio) o teflón, de longitud de 2 a 3 metros y un diámetro interno de unos pocos milímetros, típicamente de 2 a 4. El interior se rellena con un material sólido, finamente dividido para tener una máxima superficie de interacción y recubierto con una capa de espesores entre 50 nm y 1 µm. Para que puedan introducirse en el horno, se enrollan convenientemente.

El material de relleno ideal consiste en pequeñas partículas, esféricas y uniformes, con una buena resistencia mecánica, para tener una máxima superficie donde interaccionan la fase estacionaria y el analito. La superficie específica mínima ha de ser de 1 m²/g. Como todos los componentes de columnas para CG, deben ser inertes a altas temperaturas (aproximadamente 400°C) y humectarse uniformemente con la fase líquida estacionaria durante el proceso de fabricación. El material preferido es la tierra de diatomeas natural, debido a su tamaño de poro natural. Estas especies, ya extinguidas, utilizaban un sistema de difusión molecular para tomar nutrientes del medio y expulsar sus residuos. Por tanto, debido a que el sistema de adsorción superficial del analito y la fase estacionaria son parecidos, los hace materiales especialmente útiles.

El tamaño es crítico a la hora de darse el proceso de interacción del analito, y a menores tamaños la eficacia de la columna es mejor. Pero existe el problema de la presión necesaria para hacer circular un caudal estable de gas portador por la columna, ya que dicha presión es inversamente proporcional al cuadrado del diámetro de dichas partículas. Así, el tamaño mínimo para usar presiones máximas de 50 psi es de 250 a 149 μm .

Columnas capilares

Las columnas capilares son de dos tipos básicos, denominados: Columna abierta de pared recubierta (WCOT) y columna abierta recubierta con soporte (SCOT). Las WCOT son simplemente tubos capilares donde la pared interna se ha recubierto con una finísima capa de fase estacionaria. Las columnas SCOT tienen en su parte interna una fina capa de material adsorbente como el empleado en las columnas de relleno (tierra de diatomeas) donde se ha adherido la fase estacionaria. Las ventajas de las SCOT frente a las WCOT es la mayor capacidad de carga de esta última, ya que en su fabricación se emplean mayores cantidades de fase estacionaria, al ser la superficie de intercambio mayor. Por orden de eficacia, en primer lugar están las WCOT, luego las SCOT y por último las columnas de relleno.

Las columnas WCOT se fabrican a partir de sílice fundida, conocidas como columnas tubulares abiertas de sílice fundida o FSOT. Estas columnas se fabrican a partir de sílice especialmente pura, sin apenas contenido de óxidos metálicos. Debido a la fragilidad inherente a este material, en el mismo proceso de obtención del tubo se recubre con una capa de poliimida, de esta forma la columna puede enrollarse con un diámetro de unos pocos centímetros. Estas columnas, con propiedades como baja reactividad, resistencia física y flexibilidad, han sustituido a las WCOT clásicas.

Fase estacionaria

Las propiedades necesarias para una fase estacionaria líquida inmovilizada son:

- a) Características de reparto (factor de capacidad k' y factor de selectividad α) adecuados al analito.
- b) Baja volatilidad, el punto de ebullición de la fase estacionaria debe ser al menos 100°C mayor que la máxima temperatura alcanzada en el horno.
- c) Baja reactividad.
- d) Estabilidad térmica, para evitar su descomposición durante la elución.

Existen cuando mucho una docena de disolventes con estas características. Para elegir uno, debe tenerse en cuenta la polaridad del analito, ya que a mayor

polaridad del analito, mayor polaridad deberá tener la fase estacionaria. Algunas fases estacionarias más frecuentemente utilizadas y en orden de polaridad son:

- Polidimetilsiloxano, fase no polar de uso general para hidrocarburos, aromáticos, polinucleares, drogas y esteroides.
- Poli(fenilmetildifenil)siloxano (10% fenilo), para ésteres metílicos de ácidos grasos, alcaloides, drogas y compuestos halogenados.
- Poli(fenilmetil)siloxano (50% fenilo), para drogas, esteroides, pesticidas y glicoles.
- Poli(trifluoropropildimetil) siloxano, para aromáticos clorados, nitroaromáticos, bencenos alquilsustituídos.
- Polietilenglicol, para compuestos como glicoles, alcoholes, éteres, aceites esenciales.
- Poli(dicianoalildimetil)siloxano, para ácidos grasos poliinsaturados, ácidos libres y alcoholes.

Generalmente, en las columnas comerciales, la fase estacionaria se presenta enlazada y entrecruzada para impedir su pérdida durante las operaciones de elución o lavado. De esta forma se obtiene una monocapa adherida químicamente a la superficie de la columna. La reacción implicada suele ser la adición de un peróxido al líquido a fijar, iniciándose una reacción por radicales libres que tenga como resultado la formación de un enlace carbono-carbono que además incrementa su estabilidad térmica. Otra forma es la irradiación con rayos gamma.

Otro tipo de fase estacionaria son las quirales, lo cual permite resolver mezclas enantioméricas. Este tipo de fases suelen ser aminoácidos quirales o algún derivado adaptado al trabajo en columna.

El grosor de la película varía entre 0,1 y 5 μm ; el grosor depende de la volatilidad del analito. Así, un analito muy volátil requerirá una capa gruesa para aumentar el tiempo de interacción y separar más efectivamente los diferentes componentes de la mezcla. Para columnas típicas (diámetros internos de 0,25 o 0,32 mm) se emplean grosores de 0,25 μm , y en las columnas macrocapilares el grosor sube hasta 1 μm . El grosor máximo suele ser de 8 μm .¹⁷

8.3.7.- Aplicaciones

La CG tiene dos importantes campos de aplicación. Por una parte su capacidad para separar mezclas orgánicas complejas, compuestos organometálicos y sistemas bioquímicos que sean especies volátiles o especies que pueden derivatizarse para dar sustancias volátiles. Su otra aplicación es como método para determinar cuantitativa y cualitativamente los componentes de la muestra. En estos casos se emplean los tiempos o volúmenes de retención para la identificación cualitativa, mientras que las alturas de los picos o sus áreas dan información cuantitativa.¹⁷

8.4.- ESPECTROMETRÍA DE MASAS (EM).

Un espectrómetro de masas es un instrumento que separa los iones que se desplazan rápidamente según su relación masa/carga, m/z . La mayoría de los iones que se estudian presentan una sola carga, de modo que la relación es sencillamente la masa del ión.

En la figura 5 se muestran los componentes principales de todos los tipos de espectrómetros de masas.

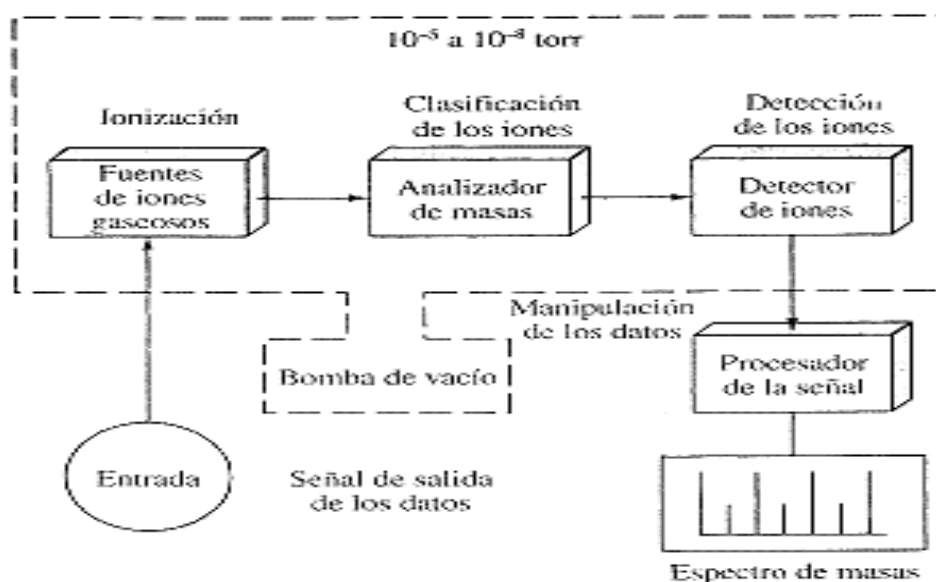


Figura 5. Componentes de un espectrómetro de masas.¹⁷

El objetivo del sistema de entrada es introducir una cantidad muy pequeña (microgramos) de muestra en la fuente de iones, donde los componentes de la muestra se convierten en iones gaseosos mediante el bombardeo con electrones, fotones, iones o moléculas. Alternativamente, la ionización se puede conseguir con energía térmica o eléctrica. La señal de salida de la fuente de iones es un flujo de iones positivos (generalmente) o iones negativos gaseosos que son acelerados en el analizador de masas.

En el analizador de masas, la dispersión se realiza en función de la relación *masa/carga* de los iones del analito.

El espectrómetro de masas contiene un detector que convierte el haz de iones en una señal eléctrica que pueda ser procesada, almacenada en la memoria de un ordenador y mostrada en pantalla o registrada de distintas formas.

Los espectrómetros de masas requieren un complejo sistema de vacío para mantener una baja presión en todos los componentes, salvo en el sistema de procesamiento de la señal y lectura.

8.4.1.- Componentes de un EM

- Sistema de introducción de la muestra
- Fuente de producción de iones
- Analizador que separa los iones que se forman de acuerdo con la relación m/z.
- Un detector que visualiza el espectro de masas (se controla por un sistema de cómputo).

m= masa relativa del ion (en unidad de masa atómica u.m.a)

z= Número atómico del ion.

8.4.2.-Sistema de introducción de la muestra

El objetivo del sistema de entrada es introducir una pequeña cantidad de muestra (igual o inferior a un micromol) en el espectrómetro de masas, donde sus componentes se convierten en iones gaseosos. A menudo, el sistema de entrada dispone de un medio para la volatilización de muestras sólidas o líquidas.

Los espectrómetros de masas más modernos están equipados con diversos tipos de entradas capaces de adaptarse a las distintas muestras, y pueden incluir una de las siguientes:¹⁷

a) Sistemas indirectos de entrada.

Este sistema es el más clásico (y el más simple), en el cual la muestra se volatiliza externamente y se introduce en la región de ionización que está a baja presión, y es aplicable a muestras gaseosas y líquidas que tengan puntos de ebullición de hasta aproximadamente unos 500°C.

Para muestras gaseosas, un pequeño volumen medido de gas se recoge entre dos válvulas colocadas en área de medida que después se expande en un recipiente contenedor.

Para los líquidos se introduce en un depósito una cantidad pequeña de la muestra, normalmente con una microjeringa.

En ambos casos, el sistema de vacío se usa para alcanzar una presión en la muestra de 10^{-5} a 10^{-4} torr.

Para las muestras que tienen puntos de ebullición superiores a 150 °C, el depósito y el tubo se deben mantener a temperatura elevada mediante un horno y unas cintas calefactoras. La temperatura máxima del horno es de 350 °C.

La muestra, una vez en fase gaseosa, se introduce en el área de ionización del espectrómetro a través de un diafragma de metal o de vidrio que contiene uno o varios orificios pequeños. El sistema de entrada es, normalmente, de vidrio para evitar pérdida de analitos polares por adsorción.

b) Entradas por sonda directa.

Los líquidos y sólidos no volátiles se pueden introducir en la región de ionización mediante un soporte para muestra o sonda, el cual se inserta a través de un cierre de vacío. El sistema de cierre está diseñado para limitar el volumen de aire que debe entrar desde el sistema después de la inserción de la sonda en la región de ionización. Las sondas se utilizan también cuando la cantidad de muestra es limitada, debido a que se pierde mucha muestra que con el sistema de entrada indirecto. Por tanto, los espectros de masas se pueden obtener, a menudo, con solo algunos nanogramos de muestra.

En una sonda, la muestra se pone generalmente en la superficie de un vidrio o en un tubo capilar de aluminio, un alambre fino o una copa pequeña. La sonda se coloca a unos pocos milímetros de la fuente de ionización y de la rendija que conduce al espectrómetro. Normalmente, el suministro de la muestra se hace tanto calentándola como enfriándola en la sonda.

La baja presión en el área de ionización y la proximidad de la muestra a la fuente de ionización, a menudo, hace posible la obtención de espectros de compuestos térmicamente inestables antes de que se descompongan. La baja presión proporciona también una concentración elevada de compuestos poco volátiles en el área de ionización. De este modo, la sonda permite el estudio de materiales no volátiles tales como carbohidratos, esteroides, especies organometálicas y sustancias poliméricas de bajo peso molecular.

c) Entradas cromatográficas.

Los espectrómetros de masas, a menudo, están acoplados a sistemas de cromatografía de gases, que permiten la separación y determinación de los componentes de mezclas complejas.

8.4.3.- Fuente de producción de iones.

La fuente de iones de un EM convierte los componentes de una muestra en iones por bombardeo de electrones, iones, moléculas o fotones. Alternativamente, la ionización se lleva a cabo por energía térmica o eléctrica. En muchos equipos actualmente el sistema de entrada y la fuente de iones están combinados en un único componente.

Las fuentes de iones se clasifican a menudo en duras o blandas.

La fuente dura más importante es la fuente de impacto de electrones, donde se comunica energía elevada a los iones formados de manera que se encuentran en estados vibracionales y rotacionales excitados. La relajación de estos iones produce una fragmentación elevada y da como resultado espectros de masas complejos.

Por el contrario, las fuentes blandas, tales como las fuentes de ionización química, producen relativamente poca excitación de los iones, de modo que, tiene lugar poca fragmentación y los espectros de masas resultantes, constan del pico del ión molecular y sólo alguno o incluso ningún otro pico.

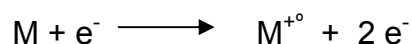
Ambos tipos de espectros son útiles en análisis. El espectro complejo de una fuente dura proporciona información útil acerca de la naturaleza de los grupos funcionales, así como información estructural de los analitos. Los espectros de una fuente blanda son útiles, ya que permiten la determinación exacta del peso molecular de la molécula o moléculas.¹⁷

Para obtener iones a partir de la muestra, ésta penetra en una cámara de ionización donde pasa a fase gaseosa y se ioniza. Esta ionización puede lograrse mediante diferentes procedimientos:

- Ionización por impacto de electrones (IIE)
- Ionización química (IQ)
- Ionización por bombardeo de iones
- Ionización por partículas neutras (IPN; bombardeo atómico rápido, BAR)
- Ionización por deserción de los campos.

Ionización por impacto de electrones (IIE)

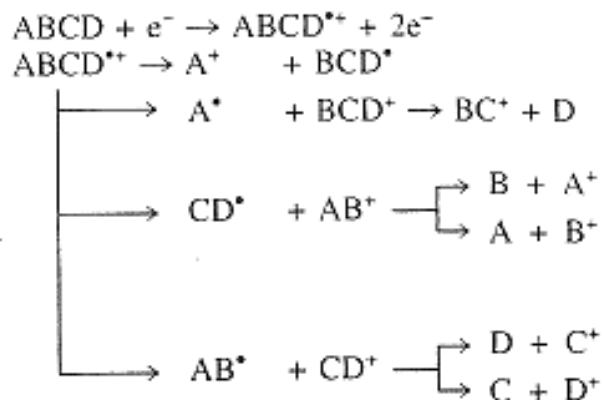
Es el método más antiguo y el que más se utiliza. La muestra se somete a un bombardeo de gran energía (generalmente de 70 eV) y se transforma en un ion positivo:



Donde M representa la molécula del analito, y, el ión M^{+o} es el **ión radical** positivo (pérdida de un solo electrón) correspondiente al peso molecular, se le llama **ión molecular**.

Los electrones provienen de un filamento que está a gran temperatura. El conjunto del sistema alcanza una temperatura considerable pero variable, de manera que garantice la volatilización de la muestra (por ejemplo: de 50 a 250 °C), además, la presión es muy pequeña (del orden de 10^{-5} Torr). Este método proporciona una fragmentación grande.¹⁶

A continuación se detalla con un ejemplo la formación de iones en un espectrómetro de masas por impacto de electrones. Las moléculas del analito en la muestra, simbolizadas por ABCD son bombardeadas por electrones (impacto de electrones) y se forma su ion molecular representado por $ABCD^{o+}$, el punto indica que es un ion radical que tiene el mismo peso molecular que la molécula y éste ion formado se fragmenta.



En los espectros de masas el pico correspondiente al ion molecular es de gran importancia en las determinaciones estructurales, debido a que su masa proporciona el peso molecular del analito. Desafortunadamente, no es siempre posible identificar el pico del ion molecular, dado que con ionización por impacto de electrones, ciertas moléculas no dan pico de ion molecular.

El pico mas grande de un espectro de masas se llama pico base, normalmente los picos base en espectros de impacto electronico corresponde a fragmentos de la molécula y no al ion molecular.

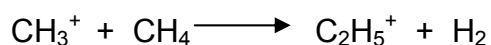
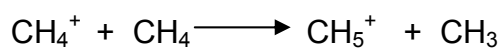
La extensa fragmentación y consecuentemente número de picos es una ventaja que proporciona la fuente de iones por impacto de electrones, debido a que permite identificaciones inequívocas de los analitos. Sin embargo, esta fragmentación puede ser también una desventaja cuando da lugar a la desaparición del pico del ion molecular por lo que no se puede establecer el peso molecular del analito.

Otra limitación es la necesidad de volatilizar la muestra, lo cual puede dar lugar a una degradación térmica de algunos analitos antes de tener lugar la ionización.¹⁷

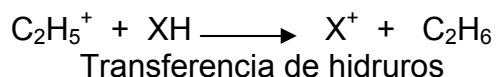
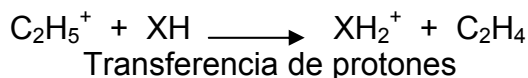
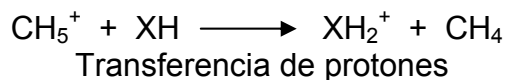
Ionización química (IQ)

En la ionización química las moléculas gaseosas de una muestra se ionizan por colisión con iones producidos por el bombardeo por electrones de un exceso de gas reactivo. Uno de los reactivos comunes es el metano, que reacciona con electrones de elevada energía para dar varios iones como CH_4^+ , CH_3^+ y CH_2^+ .

Los dos primeros predominan y representan alrededor del 90% de los productos de reacción. Estos iones reaccionan rápidamente con moléculas de metano adicional como sigue:



Generalmente, las colisiones entre la molécula de la muestra XH y CH_5^+ o C_2H_5^+ son muy reactivas e implican transferencia de protones o de hidruro. Por ejemplo:



En las reacciones de transferencia de protones se obtiene el ión $(M+1)^+$ mientras que la transferencia de hidruros produce un ión con una unidad de masa inferior a la del analito o el ión $(M+1)^+$.

Otros reactivos, tales como el propano, isobutano y amoniaco, se utilizan en la ionización química y cada uno de ellos produce un espectro diferente con un analito dado.^{16, 17}

8.4.4.- Analizador de masas

Los fragmentos iónicos formados, ya sea por impacto de electrones o ionización química, pasan al analizador de masas donde son separados magnéticamente de acuerdo con sus masas moleculares. La separación de iones está basada en la relación carga masa de los iones del analito. Para la separación de iones son posibles varios métodos. Idealmente, un analizador de masas debe distinguir diferencias pequeñas de masa y permitir el paso del número de iones suficientes para producir corrientes iónicas fáciles de medir.

Los espectrómetros de masas se clasifican en distintas categorías, dependiendo de la naturaleza del analizador de masas, como son:

- Espectrómetro de masas cuadrupolar
- Espectrómetro de masas de tiempo de vuelo
- Espectrómetro de masas de doble enfoque
- Analizadores de sector magnético
- Analizador de masas de tiempo de vuelo
- Analizadores de trampa de iones
- Espectrómetros de masas computarizados

8.4.5.- Aplicaciones

De todas las herramientas analíticas de que dispone el científico, la espectrometría de masas es quizás la de mayor aplicación, en el sentido de que esta técnica es capaz de proporcionar información acerca de:¹⁷

- 1) La composición elemental de las muestras.
- 2) La estructura de las moléculas inorgánicas, orgánicas y biológicas.
- 3) La composición cualitativa y cuantitativa de mezclas complejas.
- 4) Las relaciones isotópicas de átomos en las muestras.

Por lo que la espectrometría de masas es una técnica de análisis esencial tanto para la identificación de sustancias químicas como para su determinación cuantitativa.

8.5.- CROMATÓGRAFO DE GASES ACOPLADO A ESPECTROMETRÍA DE MASAS. CG-EM

Con la técnica de cromatografía de gases se pueden separar compuestos volátiles y semivolátiles con gran resolución, pero no puede identificarlos plenamente y aunque la espectrometría de masas es una poderosa herramienta para la identificación de compuestos puros, es insuficiente para el análisis de mezclas, incluso de las más simples, debido al gran número de fragmentos con diferentes valores de m/z producidos en cada caso. La interpretación del espectro resultante tan complejo es, a menudo, difícil de interpretar. Por estas razones, los químicos han desarrollado métodos en los que el espectrómetro de masas está acoplado a un sistema de separación más eficaz. Cuando se combinan dos o más técnicas analíticas o instrumentos, para dar lugar a un nuevo dispositivo más eficiente, esta metodología se denomina método acoplado.¹⁶⁻²¹

La cromatografía de gases acoplado al espectrómetro de masas (CG-EM) separa los componentes con una detección muy selectiva y sensible. Esto es útil en todas las áreas de ciencias para ampliar sus métodos de análisis de rutina.

La parte del cromatógrafo de gases (CG) es operado como cualquier cromatógrafo, sin embargo, el detector es reemplazado por un espectrómetro de masas (EM) donde la muestra del CG es transferida al EM para la identificación de componentes por medio de esta técnica. La identificación de la muestra se parte del hecho de que dos componentes no presentan el mismo espectro de masa, y que, bajo condiciones idénticas, los compuestos fragmentados son reproducibles y predecibles y pueden ser diferenciados.¹⁷⁻²¹

El espectrómetro de masas se conoce desde hace más de 40 años, no obstante, el acoplamiento de las posibilidades de separación del cromatógrafo de gases con las de elucidación de estructura del espectrómetro de masas se hicieron posibles sólo en los últimos 20 años. La unión de estos dos equipos, conocida en la actualidad como CG-EM (cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas), requirió el desarrollo de dispositivos que permitieran la combinación de

componentes que típicamente operan a presiones muy diferentes; mientras que el cromatógrafo de gases trabaja a una presión de salida de aproximadamente una atmósfera (760 mm de Hg), el espectrómetro de masas funciona a presiones de alrededor de 10^{-5} mm de Hg. Esta caída de presión incide necesariamente en la conexión del cromatógrafo de gases con el espectrómetro de masas. La solución de este problema sólo fue posible con la utilización de columnas capilares de diámetro 0.25 mm o menor para la separación, en virtud del menor flujo volumétrico de gas acarreador requerido en éstas. El dispositivo que permite el acoplamiento del Cromatógrafo de Gases con el Espectrómetro de Masas se conoce como interfase.

Sin embargo, en el caso de columnas rellenas así como en las columnas megacapilares ha de emplearse un separador de chorro, para eliminar la mayor parte del gas portador que acompaña al analito, en la figura 6 se muestra un esquema de un separador de chorro molecular.

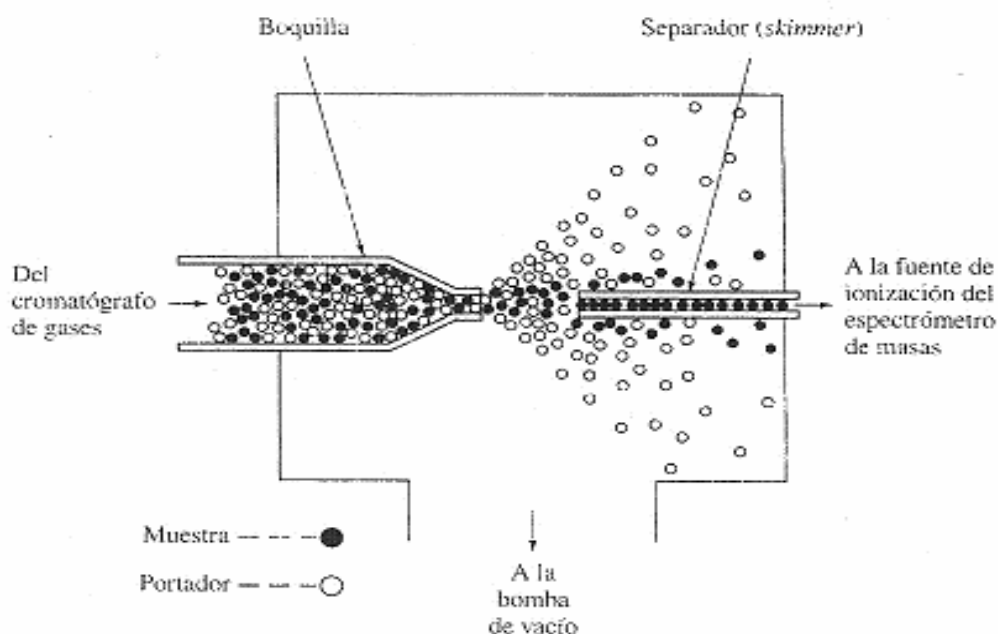


Figura 6. Esquema de un separador de chorro molecular.¹⁷

En este dispositivo, la salida de gases fluye a través de la boquilla de un separador de chorro (de vidrio), el cual aumenta el momento lineal de las moléculas más pesadas del analito, de tal forma que el 50% o más de éstas se desplazan aproximadamente en línea recta hacia el conducto colector de salida.

Por el contrario, los átomos de helio ligeros se desvían por el vacío y son succionados hacia el exterior.

8.5.1. Componentes de un CG-EM

El diagrama esquemático de un sistema típico de CG-EM se muestra en la figura 7. Desde el cromatógrafo fluye el gas y es transferido directamente por la línea de interfase hacia la zona de ionización. Los analitos vaporizados se ionizan, produciendo iones y/o fragmentos moleculares los cuales son después separados y detectados. El espectro de masa resultante es registrado como una gráfica de la intensidad relativa de esos iones contra su relación masa-carga.

Los analizadores cuadrupolo, trampa de iones y tiempo de vuelo pueden ser usados para separar los iones.¹⁶⁻²¹

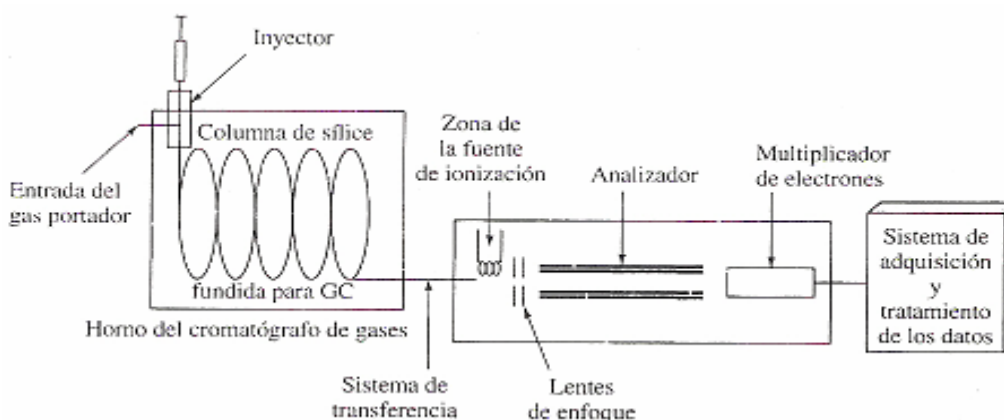


Figura 7. Esquema de un cromatógrafo de gases de columna abierta/espectrómetro de masas.¹⁷

Los métodos de ionización por impacto de electrones (IIE) o ionización química (IQ) son ampliamente utilizados en espectrometría de masas. Cada uno de estos procedimientos se utiliza para generar iones de las moléculas neutras que eluyen del cromatógrafo de gases y que son expelidas hacia el espectrómetro de masas. En el modo IIE los electrones de alta energía, generados en la fuente del espectrómetro de masas hacen expeler un electrón de la molécula neutra, con la consiguiente formación de un radical catiónico. Este radical es conocido como pico base. Este pico base es, por regla general, suficientemente estable para aparecer como pico prominente en el espectro de masas, y a su intensidad relativa se le asigna el valor de 100. El resto de los picos de iones positivos que se forman instantáneamente en la fuente de ionización del espectrómetro de masas se resuelven de acuerdo con su relación de m/z .¹⁶⁻²¹

Un espectrómetro de masas es, por tanto, un instrumento altamente sofisticado por los siguientes aspectos:

- 1.- Genera iones de compuestos volatizados.
- 2.- Separa los iones de acuerdo a su relación masa-carga (m/z).
- 3.- Desarrolla un registro del espectro de masas de abundancia relativa de los iones contra su relación masa-carga (m/z).

8.5.2. Detectores.

La mayoría de los espectrómetros de masas cuadrupolo y de sector magnético se suministran con los accesorios necesarios para ser acoplados a un equipo de cromatografía de gases.

Desde finales de los años setenta han aparecido en el mercado diversos espectrómetros de masas diseñados específicamente como detectores para cromatografía de gases. Generalmente, se trata de instrumentos de cuadrupolo compacto, los cuales son más baratos y más fáciles de utilizar y de mantener que los espectrómetros de masas multifuncionales.

El detector de masas más simple para cromatografía de gases es el detector de trampa de iones (DTI, ITD), (figura 8).

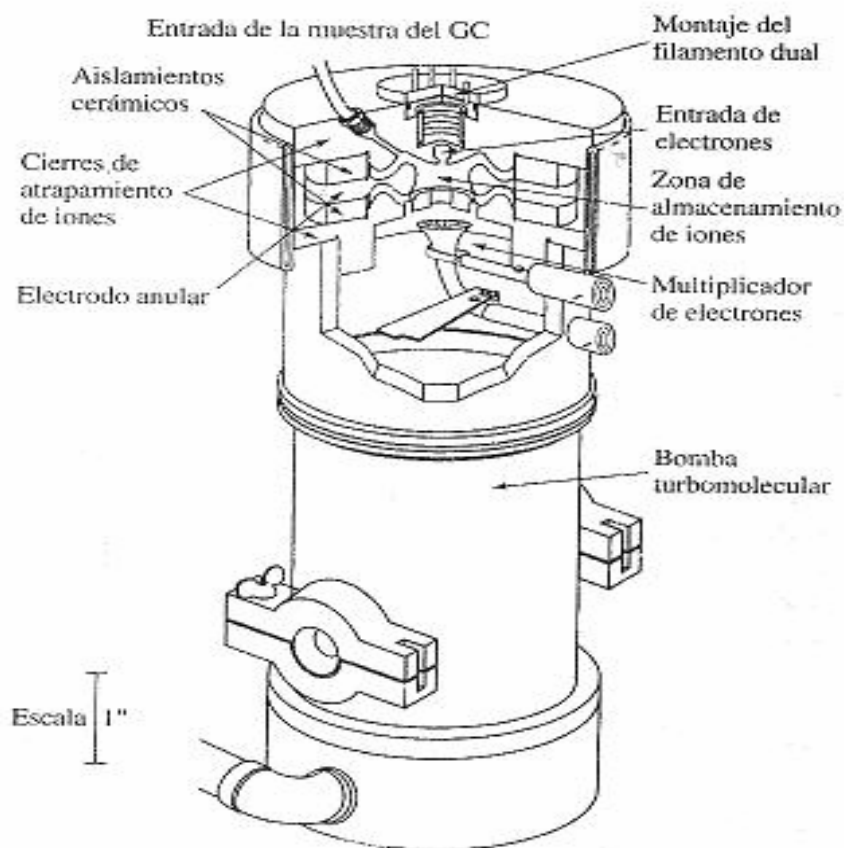


Figura 8. Esquema del detector de trampa de iones.

En este instrumento, los iones se generan por impacto de electrones (es el más común) o por ionización química, a partir de la muestra eluida, y luego se mantienen en un campo de radiofrecuencia. A continuación, los iones atrapados se expulsan del área de almacenamiento hacia un detector multiplicador de electrones. La expulsión se controla de tal forma que es posible un barrido en función de la relación masa/carga. El detector de trampa de iones es extraordinariamente compacto y más barato que los instrumentos de cuadrupolo.

Los detectores espectrométricos de masas tienen por lo común varias formas de presentación de datos, que se agrupan en dos categorías:

- a) De tiempo real
- b) Reconstruidos por ordenador.

Dentro de cada una de estas categorías se puede elegir entre los cromatogramas que registran la intensidad de todos los iones (una representación de la intensidad para uno o unos pocos iones en función del tiempo), y los espectros de masas de diversos picos.¹⁶⁻²¹

8.5.3. Usos generales.

- Identificación y cuantificación de compuestos volátiles y semivolátiles en mezclas complejas
- Determinación de pesos moleculares y (algunas veces) composición elemental de compuestos orgánicos desconocidos en mezclas complejas.
- Determinación estructural de compuestos orgánicos desconocidos en mezclas complejas por marcadores de sus espectros con referencia espectral y por una interpretación previa de su espectro.

8.5.4. Aplicaciones

- Cuantificación de los contaminantes en bebidas.¹⁷
- Cuantificación de drogas y sus metabolitos en sangre y orina para aplicaciones forenses y farmacológicas.^{17, 22, 23}
- Identificación de compuestos orgánicos desconocidos en depósitos con desechos peligrosos, o mezclado con alguna de las drogas.^{17, 24}
- Análisis de productos industriales de control de calidad
- Confirmación en cuanto a resultados positivos –falsos. Por definición: todos los resultados positivos por CG-EM son positivos.^{17, 26, 29-32}
- Menor tiempo de análisis de un gran número de muestras por analizar.^{31,33-34}
- Cuantificación de THC y sus metabolitos en fluidos biológicos postmortem.^{22, 23}

- Se cuantifica los tiempos de eliminación de THC y sus metabolitos, del cannabidiol o cannabino, para ampliar el campo de estudio de la farmacocinética y farmacodinamia, así como de los sintéticos como el dronabinol (THC sintético).^{17,24-25, 27-28, 35-37}
- Metabolismo y cuantificación del THC y de sus metabolitos, encontrando mayor cantidad del metabolito principal THC-OH y en menos el THC.COOH y en mucho menos el THC.²⁷
- Detección en orina, sangre, saliva, pelo, heces, humor vítreo y bilis (éstos dos últimos postmortem).²⁹⁻³¹
- Aplicaciones analíticas en diferentes campos de toxicología forense incluyendo análisis antidoping.³⁸

La información obtenida del equipo de CG-EM es muy basta, ya que además de la antes mencionada, incluye el cromatograma, por lo que obligatoriamente se requiere del uso de equipo de cómputo con software especial para su almacenamiento y procesamiento posterior.

El sistema CG-EM es la herramienta más potente disponible en la actualidad para el análisis de compuestos orgánicos: en el modo de operación de ión selectivo es capaz de detectar sustancias en el orden de los pg, mientras en el modo de escaneo, permite el análisis cualitativo y se obtiene la mayor información de una estructura posible de una sustancia desconocida. En éste último caso, el espectro de masas obtenido se compara con una biblioteca de espectros de masas almacenada en la computadora para realizar la identificación de los compuestos.

Su utilización rutinaria en laboratorios de análisis de alimentos ha estado limitada fundamentalmente por sus costos de operación y adquisición, que son muy elevados.¹⁹

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la investigación a partir de libros y artículos originales concernientes a *Cannabis sativa* se procedió a investigar desde los conceptos de droga, encontrando que la planta *Cannabis sativa* es considerada como una droga ilegal que mas se consume en la actualidad con un alto índice de frecuencia, principalmente adolescentes, también es considerada como una droga de inicio a otras más. Además de ser un problema social, ya que los reportes indican que en los casos de homicidios, accidentes de conductores de vehículos de motor o laboral prevalece al menos en un 50% relacionado por la ingestión de alguna droga, y en especial alcohol y cannabis.

Hay diferentes plantas de cannabis, y la más consumida es la *Cannabis sativa* y tiene usos de manera dual: terapéutica y lúdica.

En la terapéutica está en pleno desarrollo su investigación en cuanto a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas para ser aplicadas, aunque se tiene principalmente el problema de que es una droga adictiva, y un medicamento controlado.

En la lúdica, la vía de administración principalmente es fumada y en menor grado el hachís y mucho menos el aceite de cannabis, y éste último es el que contiene en mayor concentración al principio activo que es el THC.

El THC se redistribuye en el organismo permaneciendo solo el 3% en sangre y el resto se distribuye en tejidos principalmente adiposos, por lo que permanece mucho tiempo en el organismo, y el cual se va eliminando poco a poco, así como formándose los metabolitos 11-OH-THC (principal metabolito y con propiedades activas mas potentes que el mismo THC), y el 11-nor-THC-COOH.

Eliminando el THC y sus metabolitos por orina (12%) y heces fecales (68%).

Los extractos de cannabis contienen numerosos compuestos relacionados, que en conjunto se conocen como cannabinoides y que en su mayoría son insolubles en agua, actualmente se denominan cannabinoides tanto a los principios activos de *cannabis sativa* (naturales) como a otros nuevos tipos de moléculas debido al diseño y síntesis en el laboratorio de nuevos tipos de cannabinoides (sintéticos).

- a) Naturales

- Los más abundantes son el THC, su precursor el cannabidiol y el cannabinol.

- b) Sintéticos

- Como el CP 55,940 (efecto analgésico) y nabilona (efecto antiemético).

Debido a que la planta de *cannabis sativa* contiene un gran número de cannabinoides (principalmente) y otras sustancias como terpenos, azúcares, aminoácidos, muscarina y derivados de la espermidina, es posible que actuen de forma sinérgica, adictiva, o incluso antagónica y posiblemente es una de las causas por la que los efectos de la marihuana varíe de unos individuos a otros.

Existen varias técnicas analíticas conteniendo variedad en los métodos de detección y cuantificación de los componentes como son:

- reacciones colorimétricas
- Cromatografía en capa fina
- Espectro infrarrojo
- CG

La técnica de CG provee un poderoso medio de separación de componentes de mezclas complejas pero no es suficiente para identificarlos sin lugar a dudas, porque más de un componente puede tener el mismo tiempo de retención. Así como la EM es una herramienta para la identificación de compuestos puros, es insuficiente para el análisis de mezclas, incluso de las más simples, debido al gran número de fragmentos con diferentes valores de m/z producido en cada caso.

Las pruebas preliminares presuntivas son aceptadas para una detección rápida y a un bajo costo. Pero dependiendo del contexto social tal como en el campo de las Ciencias forenses, es necesario de la confirmación de esas pruebas, así como de su identificación y cuantificación con un método analítico que sea específico y sensible, el cual actualmente ha sido el de CG-EM.

10. CONCLUSIONES

La planta de *Cannabis sativa* es sin duda, una de las drogas ilegales más consumidas en todo el mundo y los adolescentes son quienes más la consumen y que por características propias de la etapa de adolescencia, se corre mayor riesgo de que se involucren en situaciones problemáticas de tipo social.

Las pruebas preliminares son ampliamente aceptadas como para una rápida detección de drogas y a un relativo menor costo, además potencialmente los métodos son útiles para detectar y monitorear drogas, pero la CG-EM es necesaria para confirmar y cuantificar de manera precisa.⁴

La confirmación por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM), es actualmente la prueba que nos otorga, el más alto nivel de confiabilidad con un respaldo legal y científico, como se mostró en el presente trabajo.

11.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Souza M M. Diagnóstico y Tratamiento de los Síndromes Adictivos. JGH. México DF., **2000**:31–43, 199–201.
- 2.- Velazco F R. Las Adicciones, Manual para Maestros y Padres. Trillas. México DF., **1997**:32-46,59-60, 85-86.
- 3.- Giroud C., Menetrey A., Augsburgera M. and col. Δ^9 -THC, 11-OH- Δ^9 -THC and Δ^9 -THCCOOH Plasma or Serum to Whole Blood Concentrations Distribution Ratios in Blood Samples Taken from Living and Dead People. *Forensic Sci. Int.* **2001**;123:159 -164.
- 4.- Lu N T., Taylor B G. Drug Screening and Confirmation by GC–MS: Comparison of EMIT II and Online KIMS against 10 drugs between US and England laboratories. *Forensic Sci. Int.* **2006**;157:106-116.
- 5.- Myers D D., Andersen A R. Adolescent Addiction Assessment and Identification. *J. Pediatric Health Care* **1991**;5:86-93.
- 6.- Páez R J. Confirmación de Drogas de Abuso por Cromatografía de Gases Acoplado a Espectrometría de Masas de Muestras Presuntamente Positivas. Tesis Licenciatura. México D.F. UNAM. FES-Zaragoza, **2003**:51-53.
- 7.- Vincent E C, Zebelman A, Goodwin C. What Common Substances can Cause False Positive on Urine Screens for Drugs of Abuse?. *J. family practice* **2006**; 55:893 -897.
- 8.- Wills S. Drugs of Abuse. 2nd. edn.: Pharmaceutical press, London **2005**:1-2.
- 9.- Laderos L P., Leza J M. Drogodependencia, Farmacología, Legislación. 2ª ed.: Panamericana, Madrid, **2003**:3-21, 263-271.
- 10.- Massun E. Prevención del Uso Indevido de Drogas.: Trillas, México DF. **1991**: 15, 25, 31.
- 11.- Cruz M P I. Las Drogas y sus Efectos. Trillas, México DF. **1998**:27-29.
- 12.- Katzung BG. Farmacología Básica y Clínica. Manual Moderno, México DF. **2002**:610.
- 13.- Cruz R M. El Perfil Psicológico del Adicto Consumidor de Marihuana. Tesis de Licenciatura. México D. F. UNAM. ENEP-Iztacala, **1998**:14-16.
- 14.- Rang H P, Dale M M, Ritter J M, Moore P K. Farmacología. 5ª ed.:Elsevier, Madrid, **2004**:609.

- 15.- González S, Sagredo O, Gómez M y Ramos J A. Guía Básica Sobre los Cannabinoides. Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides; Madrid, **2002**: 13-15. <http://www.ucm.es/info/seic-web>
- 16.- Cohen Yves. Análisis Químicos Farmacéuticos de Medicamentos. Limusa S.A. de C.V., México DF, **1998**:998-990.
- 17.- Skoog D A, Holler F J., Nieman T A. Principios de Análisis Instrumental. 5ª ed. McGraw-Hill, Madrid, **2001**:759-777.
- 18.- Cole MD, Caddy B. The Analysis of Drugs of Abuse: An instruction manual. Ellis Horwood **1995**; 133-147.
- 19.- Noa PM, Pérez FN, Días G, Vega L. Cromatografía de Gases y de Líquidos de Alta Resolución. UAM-Xochimilco: Serie Académicos, **2005**: 15, 17-18, 29, 51, 89, 103-105.
- 20.- Settle F A. Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry. Prentice Hall PTR, New Jersey **1997**: 609-625.
- 21.- Grob R L. Modern Practice of Gas Chromatography. 3nd. edn.: A Wiley Interscience, New York. **1995**: 326-348, 706.
- 22.- Garriott J.C. Di Maio VJM. Rodriguez RG. Detection of Cannabinoids in Homicide Victims and Motor Vehicle Fatalities. *J. Forensic Sci.* **1986**:31:1274-1282.
- 23.- Dong-Liang. Reng-Lang. Distribution of 11 - Nor - 9 - Carboxy - D9 - tetrahydrocannabinol in Traffic Fatality Cases. *J. Anal. Toxicol.* **2005**:29:58-61(4).
- 24.- Caligiani A. Palla G. Bernardelli B. GC-MS Analysis of Hashish Samples: A Case of Adulteration with Colophony. *J. Forensic Sci.* **2006**: 51:1096-1100.
- 25.- Goodwin R S., Gustafson R A., Barnes A BS and col. [DELTA]9-Tetrahydrocannabinol, 11-Hydroxy-[DELTA]9-Tetrahydrocannabinol and 11-Nor-9-Carboxy-[DELTA]9-Tetrahydrocannabinol in Human Plasma After Controlled Oral Administration of Cannabinoids. *Therapeutic Drug Monitoring.* **2006**:28:545-551.
- 26.- De Giovanni N. Fucci N. Hypothesis on Interferences in Kinetic Interaction of Microparticles in Solution (Kims) Technology. *Clinical Chemistry & Laboratory Medicine.* **2006**. 44: 894-897.
- 27.- Marchei E. Pellegrini M. Pacifici R. Palmi. and col. Quantification of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and its major Metabolites in Meconium by Gas

Chromatographic-Mass Spectrometric Assay: Assay validation and preliminary results of the "Meconium Project". *Therapeutic Drug Monitoring*, **2006**: 28:700-706.

- 28.- Nadulski T., Pragst F., Weinberg G., Roser P and col. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study About the Effects of Cannabidiol (CBD) on the Pharmacokinetics of [DELTA]9-Tetrahydrocannabinol (THC) After Oral Application of THC Versus Standardized Cannabis Extract. *Therapeutic Drug Monitoring*. **2005**;27:799-810.
- 29.- Cirimele V., Villain M., Mura P. and col. Oral Fluid Testing for Cannabis: On-site Oral Line IV s.a.t. device versus GC/MS. *Forensic Sci. Int.* **2006**; 161:180-184.
- 30.- Peace M R., Tarnai L D., Poklis A. Performance Evaluation of Four On-Site Drug-Testing Devices for Detection of Drugs of Abuse in Urine. *J. Anal. Toxicol.* **2000**; 24: 589-594.
- 31.- Moore C., Ross W., Coulter C., Adams L. and col. Detection of the Marijuana Metabolite 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in Oral Fluid Specimens and its Contribution to Positive Results in Screening Assays. *J. Anal. Toxicol.* **2006**; 30: 413-418.
- 32.- Moody D E., Fang W B., Andrenyak D M. and col. A Comparative Evaluation of the Instant - View 5 - Panel Test Card with Ontrak Testcup Pro 5: Comparasion with Gas Chromatography - Mass Spectrometry. *J. Anal. Toxicol.* **2006** ; 30: 50-56.
- 33.- Stout P R., Horn C K., Klette K L. Solid – Phase Extraction and GC – MS Analysis of THC-COOH Method Optimized for a High-Throughput Forensic Drug-Testing Laboratory. *J. Anal. Toxicol.* **2001**; 25: 550-554.
- 34.- Huestis M A., Mitchell J M., Cone E J. Detection Times of Marijuana Metabolites in Urine by Immunoassay and GC-MS. *J. Anal. Toxicol.* **1995**; 19: 443-9.
- 35.- Kochanowski M., Kala M. Tetrahydrocannabinol in Clinical and Forensic Toxicology. *Prsegl leck.* **2005**; 62: 576-80.
- 36.- Manno J E., Manno B R., Kemp P M., Alford D D. and col. Temporal Indication of Marijuana Use can be Estimated from Plasma and Urine Concentrations of Delta9-tetrahydrocannabinol, 11-hydroxy-delta9-tetrahydrocannabinol, and 11-nor-delta9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid. *J. Anal. Toxicol.* **2001**; 25: 538-49.
- 37.- Dixit V M. solid Phase Extraction of 11-nor-Delta-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid from Human Urine with Gas Chromatography-Mass

Espetrometric Confirmation. *J. Chromatography Biomedical Applications*. **1991**; 567: 81-89.

- 38.- Strano R S., Molaroni F., Botre F. Rapid Screening of Drugs of Abuse and their Metabolites by Gas Chromatography/Mass Spectrometry: Application to Urinalysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. **2005**; 19: 1529-1553.