



**Universidad de Valladolid**

Facultad de Ciencias

## **TRABAJO FIN DE GRADO**

Grado en Química

**Título del Trabajo**

# **Estudio para la determinación de 2C-B en drogas ilegales**

***Autor: David Alejandro Velasco Villa***

***Tutor/es: Dr. Luís Mariano Deban Miguel***

***(Dpto. Química Analítica)***

***Dr. Jesús Miguel Tejedor Muñoz***

***(Delegación del Gobierno)***



**El siguiente trabajo ha sido realizado por el alumno del Grado en Química de la Universidad de Valladolid DAVID ALEJANDRO VELASCO VILLA, en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valladolid, con la colaboración del Área de Sanidad de la Delegación del Gobierno de Castilla y León, bajo la dirección del Dr. LUIS MARIANO DEBAN MIGUEL y el Dr. JESÚS MIGUEL TEJEDOR MUÑOZ, a los cuales quiero agradecer el haberme suministrado todos los medios necesarios para la realización de este trabajo.**

**De la misma forma, agradecer a los profesionales FRANCISCO DE LA ROSA y ROSARIO GÓMEZ que me han proporcionado la ayuda y material de laboratorio necesario para la realización del trabajo.**



# INDICE

1. RESUMEN/SUMMARY .....	6
2. INTRODUCCIÓN .....	7
2.1 2C-B .....	7
2.1.1 EFECTOS EN EL CONSUMO .....	8
2.1.2 ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS .....	9
2.1.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS ESTUDIADOS EN EL TRABAJO .....	11
2.2 OBJETIVOS .....	14
2.2.1 TÉCNICAS UTILIZADAS .....	15
3. EXPERIMENTACIÓN Y RESULTADOS .....	16
Reactivos y Equipos empleados .....	16
Estudio por espectroscopía UV/VIS .....	18
Respuesta 2C-B frente a la concentración .....	21
3.1 Cromatografía líquida de alta resolución con detector acoplado de UV/VIS (HPLC-UV/VIS) .....	23
3.1.1. Fase móvil .....	23
3.2. Cromatografía de gases (GC-FID) .....	30
3.2.1. Preparación de la muestra .....	30
3.2.2. Estudio de las condiciones de trabajo .....	30
4. CONCLUSIONES .....	36
5. BIBLIOGRAFÍA .....	37
6. ANEXOS .....	39
6.1 ESPECTROSCOPIA UV/VIS. ....	40
6.2. CROMATOGRAMAS HPCL .....	44
6.3. CROMATOGRAMAS GC/FID. ....	61

# 1. RESUMEN/SUMMARY

## Resumen

La 2C-B o 4-bromo-2,5-dimetoxifeniletamina, es una droga sintética, cuyo consumo está aumentando en los últimos años. En nuestro trabajo hemos planteado procedimientos basados en HPLC con detector UV/VIS y cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) para su identificación y cuantificación en posibles muestras de venta ilegal y en consecuencia de muy diferente y variada composición, según los procesos de “corte” de la misma. Del estudio realizado se concluye la posibilidad de determinación de dicho compuesto en presencia de principios activos de medicamentos o alcaloides de procedencia legal o no que en algunos casos se encuentran presentes en muestras requisadas. La separación y determinación de 2C-B, en presencia de los posibles adulterantes, se llevó a cabo por HPLC en tiempo de análisis no superior a 7 minutos y con un límite de detección de 0,1 ppm. En el caso de GC, el límite de detección es de 0.3 ppm con un tiempo de análisis inferior a los 8 minutos.

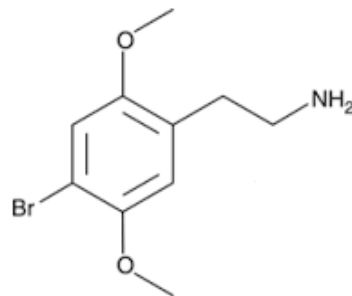
## Summary

The 2C-B or 4-bromo-2,5-dimethoxyphenylethylamine, is a synthetic drug, whose consumption is increasing in recent years. In our work we consider the procedures in HPLC with UV/VIS detector and gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID) for its identification and quantification in possible samples of illegal sale and consequently of very different and varied composition, according to the processes of “cutting”. From the study conducted it is concluded that the possibility of determining such compound in the presence of active ingredients of medicines or alkaloids of legal origin or not that in some cases are present in the confiscated samples. The separation and determination of 2C-B, in presence of the possible adulterants, was carried out by HPLC in time of analysis not superior to 7 minutes and with limit of detection of 0.1 ppm. In case of GC, the limit of detection is of 0.3 ppm with a time of analysis lower than 8 minutes.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 2C-B

El consumo de drogas sintéticas, es un problema generalizado y creciente en todo el mundo. En nuestro país ocupa el cuarto lugar tras el tabaco, el alcohol, y los cannabinoides. Los consumidores mayoritarios de este tipo de drogas son jóvenes con edades comprendidas entre 16 y 24 años; una de estas drogas que ha comenzado a popularizarse es la 4-bromo-2,5-dimetoxifeniletilamina.



El 4-bromo-2,5-dimetoxifeniletilamina (2C-B, cocaína rosa, Nexus o Venus), es una droga de diseño con efectos psicoestimulantes, entactógenos y alucinógenos; sintetizada por primera vez en 1975 por Alexander Shulgin cuando estudiaba una sustancia análoga, conocida como DOB (2,5-dimetiloxi-4-bromoanfetamina) (1).

La 2C-B pertenece al grupo de drogas 2C, que hace referencia a los dos carbonos existentes entre el grupo amino y el anillo de benceno. Tienen en común 2 grupos metoxi en las posiciones 2 y 5 del anillo de benceno. Además, la familia 2C tiene un sustituto lipofílico en la posición 4 del anillo (en la 2C-B es un átomo de bromo). Son derivados del grupo feniletilamina.

En la década de los años 80 del pasado siglo, aparece por primera vez como producto comercializado, entonces, no se encontraba entre las sustancias prohibidas, pero es en la década de los noventa cuando se inicia un amplio consumo de la misma debido en parte a su salida al mercado bajo el nombre de “Erox” por sus supuestos efectos afrodisiacos; sin embargo, como veremos en el apartado siguiente, genera otros efectos de carácter secundario perjudiciales para la salud, por lo que en el año 2001 se agrega a la lista de estupefacientes regulados como un nuevo tipo de droga. Actualmente se incluye en la lista II del anexo I de psicótopos, Real Decreto 2829/1977, por el que se regulan las sustancias y productos psicotrópicos en España; también se incluye en la lista II del Convenio sobre Sustancias Psicotrópicas de las Naciones Unidas, autorizándose su uso terapéutico y permitiéndose su uso en ensayos clínicos de farmacología humana y terapéuticos<sup>[1 y 2]</sup>.

Su distribución puede ser en polvo, pastillas, o cápsulas; muchas veces es vendido como éxtasis o MDMA por la similitud con sus efectos. No es una droga al alcance de todos los grupos sociales debido a su alto precio.

Debido a su comercialización ilegal, su consumo presenta un serio problema, no solo por el desconocimiento del grado de pureza sino también por la presencia de adulterantes en las muestras.

### 2.1.1 EFECTOS EN EL CONSUMO

El mecanismo de acción de la 2C-B consiste en incrementar las concentraciones de dopamina y serotonina en la sinapsis, a través de la liberación de estos neurotransmisores.

En dosis pequeñas tiene efectos de potenciación sensorial que se manifiestan en la sensibilidad de la piel y en una reacción agudizada de olores, sabores y estimulación sexual.

En dosis mayores es un alucinógeno fuerte.

Los efectos físicos de esta droga pueden ser mareos, náuseas, dilatación de las pupilas, taquicardia, ansiedad, aumento de la presión arterial, dolor de cabeza, visión borrosa o insomnio. El consumo reiterado de la sustancia, como en el caso de otras drogas, crea adicción, lo que conlleva la necesidad de tener que consumir dosis mayores para conseguir los mismos resultados. Su consumo, se realiza por vía oral o intranasal, siendo su absorción rápida. El efecto que produce comienza a los 10-15 minutos y puede durar en el organismo hasta unas seis horas<sup>[3]</sup>.



## 2.1.2 ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

La 2C-B fue sintetizada por Alexander Shulgin en 1975, publicando sus resultados en dos libros llamados PHIKAL y THIKAL, publicados en 1991 y 1997 respectivamente (2 y 3). En ellos, cuenta las experiencias vividas por él y su grupo de investigadores al consumir esa droga en la primera parte, y la síntesis de la misma en la segunda parte, junto con otras drogas también estudiadas. Shulgin descubre y sintetiza en su vida cientos de drogas psicodélicas, y es por ello una persona notable en este campo.

Aunque la 2C-B se descubre en 1975, es a partir del presente siglo cuando se muestra un mayor interés en la determinación de este compuesto o sus metabolitos, sobre todo en muestras de tipo biológico. La mayoría de los estudios se realizan en orina o restos fecales de distintas especies, debido a que la mayor parte de los metabolitos de la 2C-B se eliminan a través de la orina.

En 2003, Tatsuyuki Kanamori (4) analiza y determina los metabolitos de la 2C-B en muestras de orina y restos fecales de rata. Sobre las muestras, convenientemente tratadas, se realiza una extracción líquido-líquido, y los extractos fueron analizados por cromatografía de gases, en una columna capilar DB-5ms de 30 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de grosor de película, con un detector de masas que opera bajo ionización electrónica (EI). Se obtiene una respuesta lineal para concentraciones entre 0.1-10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  con un coeficiente de correlación de 0.99.

Denis S. Theobald, en 2007 (5), decide determinar los metabolitos de 2C-B en muestras de orina de rata, mediante el protocolo STA (systematic toxicological analysis) (6), protocolo que tiene como finalidad detectar y analizar todas las sustancias de relevancia toxicológica en material biológico. Sobre la muestra, previamente tratada, se hace una extracción líquido-líquido. Sus extractos, fueron derivatizados mediante acetilación y fueron analizados por cromatografía de gases compuesta por una columna capilar HP-1 de 12 m de largo, 0,20 mm de diámetro interno, combinado con un espectrómetro de masas como detector que opera bajo ionización electrónica (EI). En su estudio, Theobald demuestra que el protocolo STA es adecuado para determinar todos los metabolitos de la 2C-B en este tipo de muestras.

En 2013, Tatsuyuki Kanamori determina metabolitos presentes en muestras de orina de consumidores habituales de 2C-B (muestras biológicas humanas), previa extracción líquido-líquido y posterior derivatización. El análisis se lleva a cabo mediante cromatografía de gases/masas y la respuesta es lineal en un rango de concentraciones entre 0.05-2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , (7).

En 2014, Sarah Kerrigan (8) realizó la determinación de 15 drogas, incluida la 2C-B, en muestras de orina por cromatografía de líquidos de alta resolución, HPLC, con detector de masas. La preparación de la muestra se hizo previa extracción en una columna polimérica PolyChromClin II, la elución se realiza con 1mL de cloruro de metileno/isopropanol 95:5 v.v (en volumen) que contiene un 2% de hidróxido amónico concentrado.

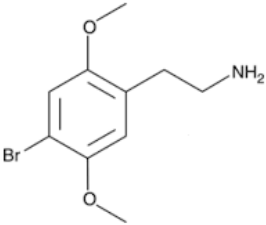
Otro tipo de muestra analizada y de la que se ha obtenido información, son las muestras de células de hígado (hepatocitos) de varias especies, incluida la humana.

En 2005 (9), Kanamori analiza metabolitos de 2C-B en células del hígado (hepatocitos) de rata; se procede a la extracción de los mismos, previo tratamiento, mediante extracción líquido-líquido y los analiza por cromatografía de gases en una columna capilar DB-5ms de 30 m de largo, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de grosor de película, con un detector de masas que opera bajo ionización electrónica (EI).

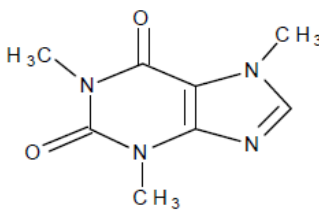
Un estudio realizado por Helena Carmona en 2005 reveló la presencia de metabolitos de 2C-B en hepatocitos de diferentes especies animales, incluida la humana (10), el análisis se lleva a cabo con un cromatógrafo de gases con detector de masas, en una columna capilar HP-1 de 18 m de largo por 0.20 mm de diámetro interno y 0.33  $\mu\text{m}$  de grosor de película.

### 2.1.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS ESTUDIADOS EN EL TRABAJO

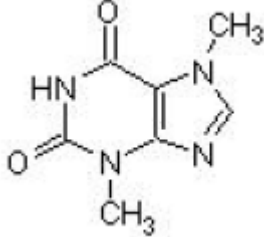
#### 2C-B:

Nombre químico	4-bromo-2,5-dimetoxifeniletamina
Formula molecular	$C_{10}H_{14}BrNO_2$
Peso molecular	260,13 g/mol
Estructura química	
Solubilidad en agua	0,199 mg/ml
Solubilidad en metanol	17,0 mg/mL

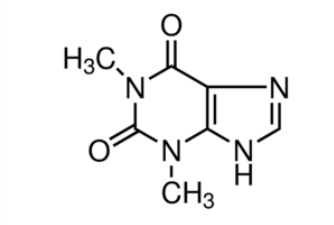
#### CAFEINA:

Nombre químico	1,3,7-trimetilxantina
Formula molecular	$C_8H_{10}N_4O_2$
Peso molecular	194,2 g/mol
Estructura química	
Solubilidad en agua	16,00 mg/ml
Solubilidad en metanol	15,00 mg/ml

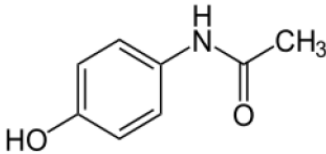
**TEOBROMINA:**

Nombre químico	3,7 – dimetilxantina
Formula molecular	$C_7H_8N_4O_2$
Peso molecular	180,17 g/mol
Estructura química	
Solubilidad en agua	0,56 mg/ml
Solubilidad en metanol	0,42 mg/ml

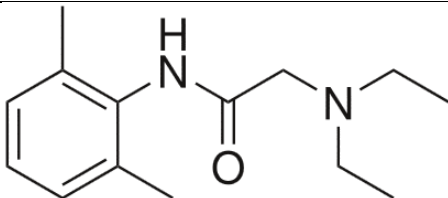
**TEOFILINA:**

Nombre químico	1,3-Dimetilxantina
Formula molecular	$C_7H_8N_4O_2$
Peso molecular	180,17 g/mol
Estructura química	
Solubilidad en agua	8,3 mg/ml
Solubilidad en metanol	12,5 mg/ml

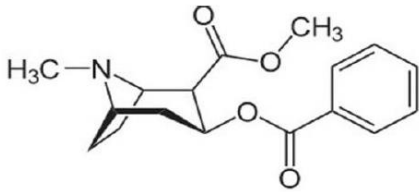
**PARACETAMOL:**

Nombre químico	4-Hidroxifenilacetamida
Formula molecular	$C_8H_9NO_2$
Peso molecular	151,17 g/mol
Estructura química	
Solubilidad en agua	14 mg/ml
Solubilidad en metanol	~12 mg/ml

**LIDOCAINA:**

Nombre químico	2-(dietilamino)-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida
Formula molecular	$C_{14}H_{22}N_2O$
Peso molecular	234,343 g/mol
Estructura química	
Solubilidad en agua	4,1 mg/ml
Solubilidad en metanol	~50 mg/ml

## COCAÍNA:

Nombre químico	Benzoilmetilecgonina
Formula molecular	$C_{17}H_{24}NO_4$
Peso molecular	303,40 g/mol
Estructura química	 <p>The chemical structure of Benzoilmetilecgonina is shown. It features a tropane bicyclic core (8-azabicyclo[3.2.1]octane) with a methyl group on the nitrogen atom. The tropane ring is substituted with a methyl ester group (-COOCH<sub>3</sub>) and a benzoate ester group (-COO-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).</p>
Solubilidad en agua	1,6 mg/ml
Solubilidad en metanol	~15,3 mg/ml

## 2.2 OBJETIVOS

En este trabajo se pretende poner a punto procedimientos para determinar 2C-B por diferentes técnicas cromatográficas, de líquidos y gases con detectores ultravioleta visible y de ionización de llama respectivamente (HPLC/UV-VS Y CG-FID), así como llevar a cabo un estudio para su identificación y determinación en presencia de otras sustancias susceptibles de estar presentes, en distintas formas, en muestras incautadas, tales como: cafeína, teobromina, teofilina, paracetamol, lidocaína y cocaína.

## 2.2.1 TÉCNICAS UTILIZADAS

A continuación realizamos una breve descripción del fundamento de las mismas:

- **Espectroscopía de UV-VIS:** La espectroscopía de UV-VIS determina la absorción de la radiación ultravioleta-visible por un analito.

En nuestro caso, se aplica fundamentalmente, para conocer la longitud de onda de absorción de los compuestos a estudiar y su posterior determinación por HPLC.

- **Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) con detector de UV-VIS:** Es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla. Consiste en una fase estacionaria (columna) y una fase móvil que actúa sobre la muestra. Los componentes de la muestra se separan en función de su interacción con la columna y fase móvil. Estas interacciones químicas determinan los tiempos de retención de dichos componentes en la columna.

Con esta técnica se pretende conseguir la separación de 2C-B respecto de posibles adulterantes.

- **Cromatografía de gases (GC) con detector FID:** La cromatografía de gases es una técnica utilizada para separar los compuestos volátiles de una muestra. La fase móvil es un gas inerte (nitrógeno o helio) que transporta la muestra volatilizada en el inyector a través de la columna cromatográfica. La fase estacionaria generalmente está constituida por una columna de metil polisiloxano, o derivados de éste. Los diferentes compuestos se separan en función de su grado de volatilidad y su afinidad por la fase estacionaria.

Al igual que en HPLC, se estudian las condiciones para conseguir la mejor separación de 2C-B del resto de compuestos a estudiar.

### 3. EXPERIMENTACIÓN Y RESULTADOS

#### Reactivos y Equipos empleados

La muestra de 2C-B, la proporciona el Área de Sanidad de la Delegación del Gobierno.

Se pesan  $2,62 \pm 0,01$  mg de muestra, se disuelve en metanol y se añade HCl 0,01M hasta pH ácido, enrasándose con metanol a 50,0 ml. Se toman alícuotas de esta disolución y se enrasan al volumen que convenga obteniendo disoluciones cuyas concentraciones están comprendidas entre 1 y 20 ppm.

#### Reactivos

- Metanol (MeOH) casa Panreac tipo (UV-IR-HPLC isocratic) de calidad PAI-ACS.
- HCl casa Scharlau 37% grado ACS, ISO.
- Acetato amónico casa Scharlau calidad extrapure.
- Acetonitrilo casa Panreac gradiente para cromatografía líquida.
- Agua desionizada.
- Lidocaína de la casa Sigma Aldrich, grado analytical standard.
- Teobromina de la casa Sigma Aldrich, con una pureza  $\geq 99,0\%$  (HPLC).
- Teofilina de la casa Sigma Aldrich, con una pureza  $\geq 98,0\%$ .
- Paracetamol de la casa Sigma Aldrich, European Pharmacopoeia (EP) Reference Standard.
- Cafeína de la casa Sigma Aldrich, grado Sigma Reference Standad.
- Cocaína proporcionada por la Delegación del Gobierno.
- Bombonas de gases de H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> y aire sintético Alphagaz™ Tipo I y de la casa Air Liquid.



## Equipos

- Balanza Sartorius Entris  $\pm 0,00001$  g
- Material de vidrio de la casa Scharlau.

<b>Espectrofotetría UV/VIS</b>	
<b>Equipo</b>	HEWLETT PACKARD AGILENT 8453
<b>Cubeta</b>	Cuarzo
<b>Lámpara</b>	Deuterio; Wolframio

<b>Cromatografía HPLC-UV/VIS</b>	
<b>Equipo</b>	AGILENT 1200
<b>Columna</b>	Col KROMAPHASE C18 5.0 150mm x 4.6mm

<b>Cromatografía de gases FID</b>	
<b>Equipo</b>	Agilent Technologies 6890N
<b>Columna</b>	HPS 5% metilsilano 30 metros $\times$ 0,25mm de diámetro interno $\times$ 0,25 $\mu$ m de espesor

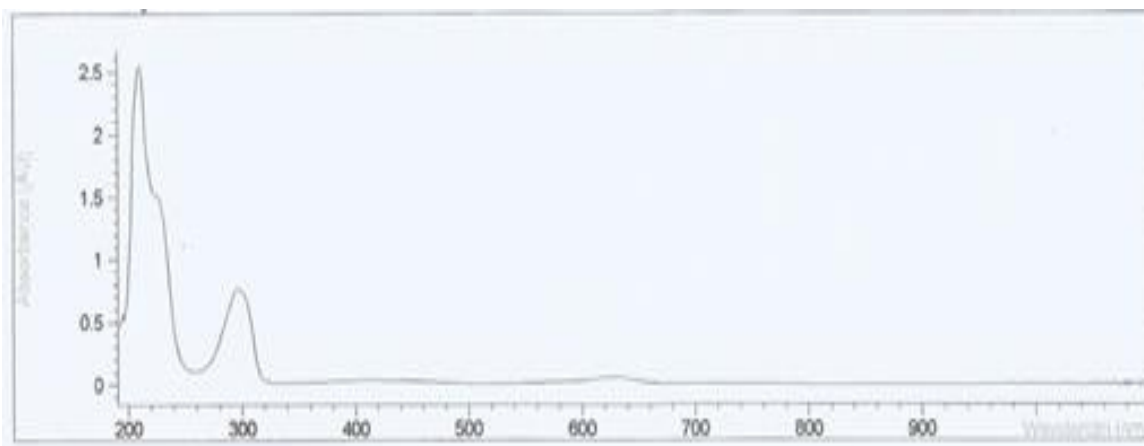
## Estudio por espectroscopía UV/VIS

Para determinar la longitud de onda de máxima absorción del compuesto, tanto para su determinación directa como para su aplicación por HPLC con detector UV/VIS, se hacen barridos de longitud de onda, entre 200-800 nm tanto de 2C-B como de los adulterantes estudiados a fin de conocer las longitudes de onda de máxima absorción, los cuales se ven reflejados en la siguiente tabla (Tabla I) y en las figuras (1-7)

**Tabla I**

Compuesto	Longitud de onda de máxima absorción (nm)	Compuesto	Longitud de onda de máxima absorción (nm)
2C-B	210 y 294	Cafeína	207 y 273
Paracetamol	205 y 241	Teofilina	207 y 271
Lidocaina	208	Teobromina	206 y 272
Cocaína	233		

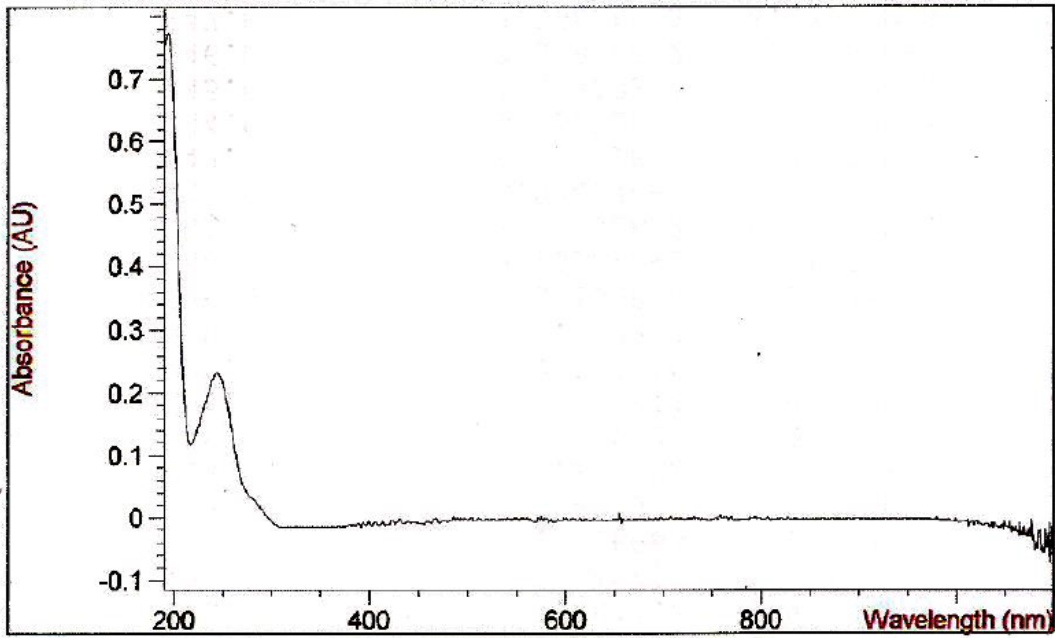
FIG. (1)



**Espectro de absorción UV-VIS de 2C-B**

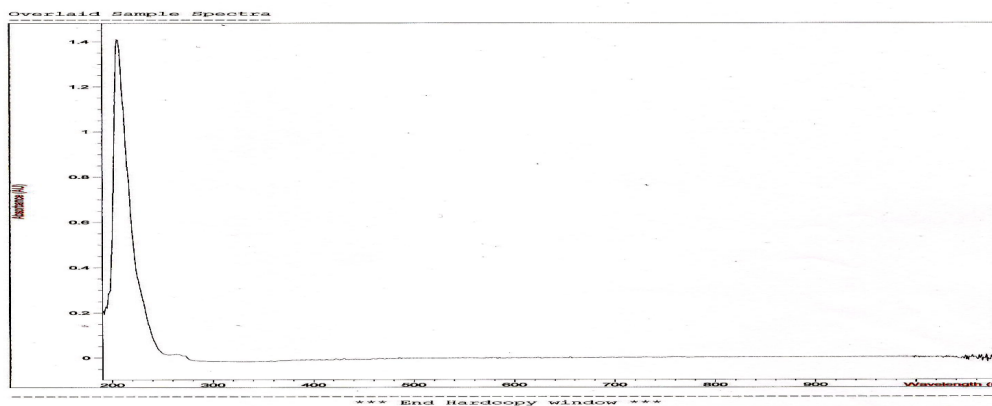
FIG. (2)

Overlaid Sample Spectra



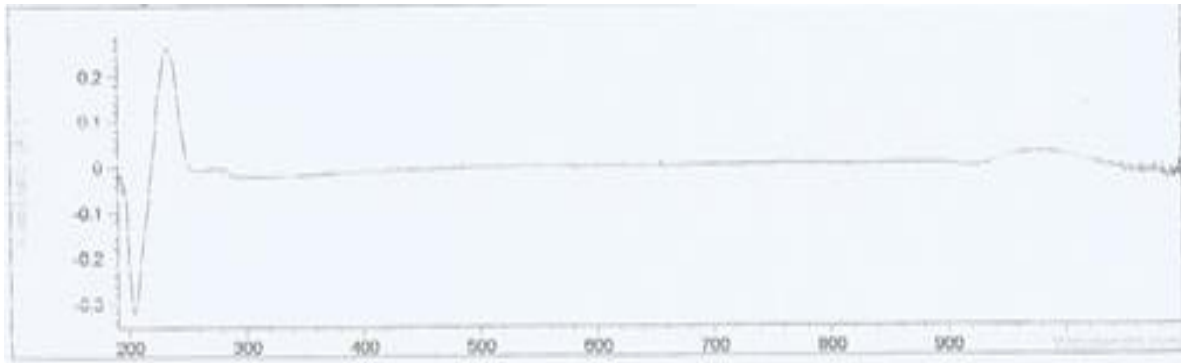
Espectro de absorción UV-VIS de Paracetamol

FIG. (3)



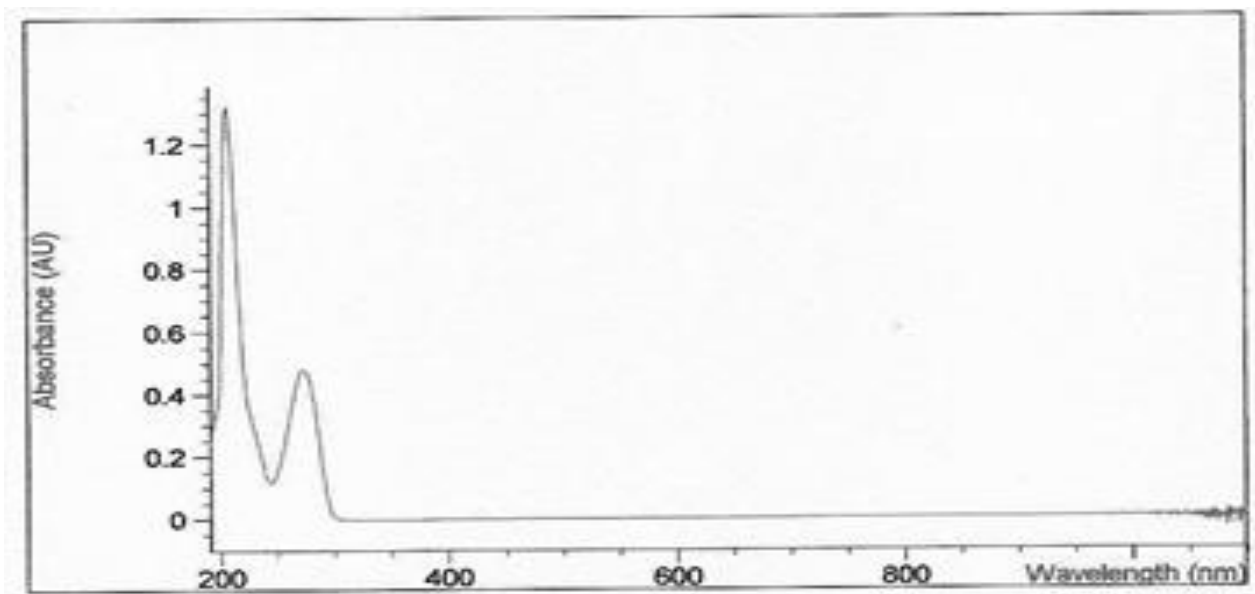
Espectro de absorción UV-VIS de Lidocaína

FIG. (4)



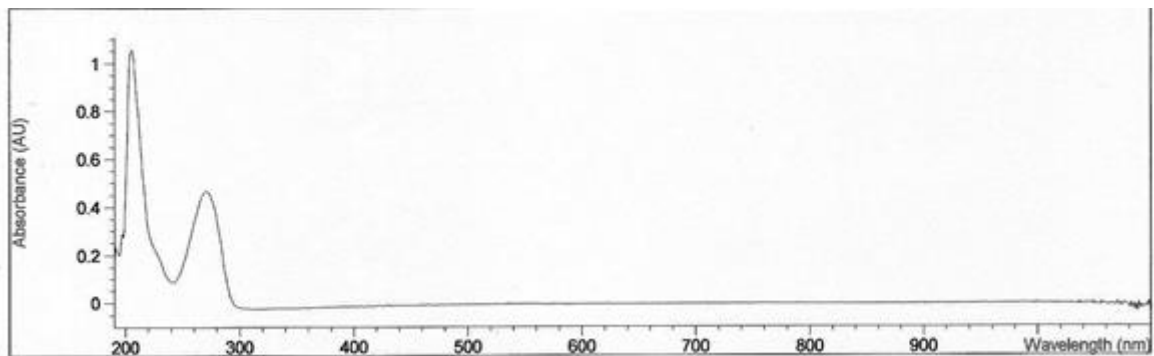
**Espectro de absorción UV-VIS de Cocaína**

FIG. (5): Cafeína



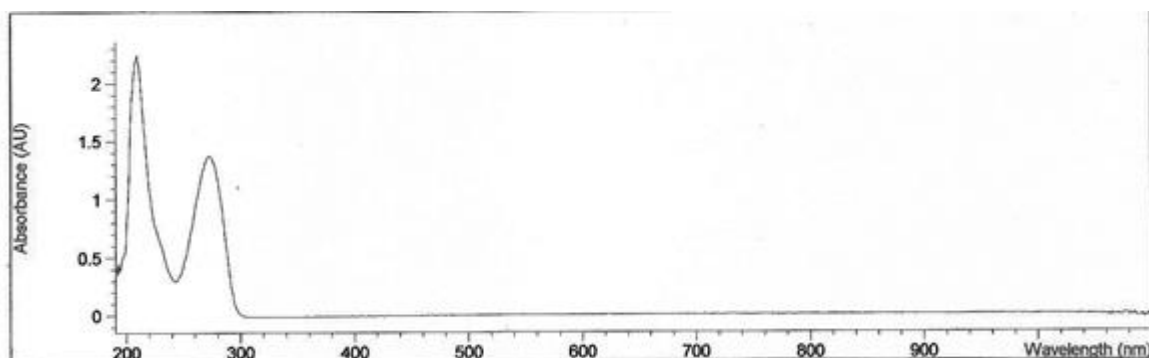
**Espectro de absorción UV-VIS de Cafeína**

FIG. (6)



**Espectro de absorción UV-VIS de Teofilina**

FIG (7)



**Espectro de absorción UV-VIS de Teobromina**

### Respuesta 2C-B frente a la concentración

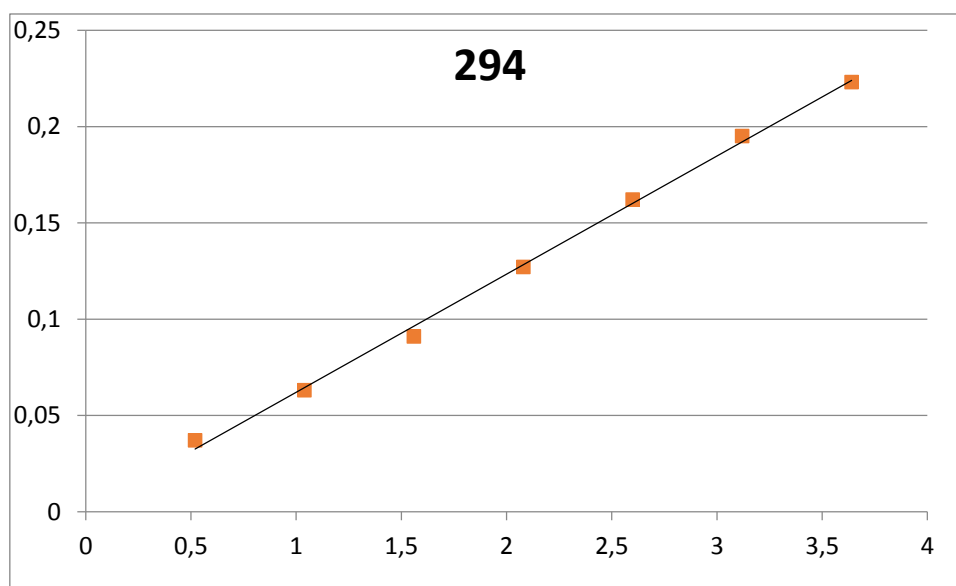
A continuación, se realiza un estudio sobre la respuesta entre la absorbancia y la concentración con patrones de 2C-B en metanol, los resultados para la longitud de onda que hemos considerado más idónea para minimizar las interferencias a efecto de su posterior aplicación en HPLC, 294 nm, se recogen en la Tabla II y en la Gráfica I.

De la pendiente de la recta se obtiene un valor de absorptividad de  $0.0613 \text{ ppm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a un valor de absorptividad molar del orden de  $\epsilon = 1,6 \cdot 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , con un límite de detección de 0,1 ppm.

Tabla II

2C-B (ppm)	Absorbancia
0,52	0,037
1,04	0,063
1,56	0,091
2,08	0,127
2,6	0,162
3,12	0,195
3,64	0,223
4,16	0,254
4,68	0,292
5,2	0,324

GRÁFICA I



Relación entre la concentración en ppm y la absorbancia en muestras patrón de 2C-B

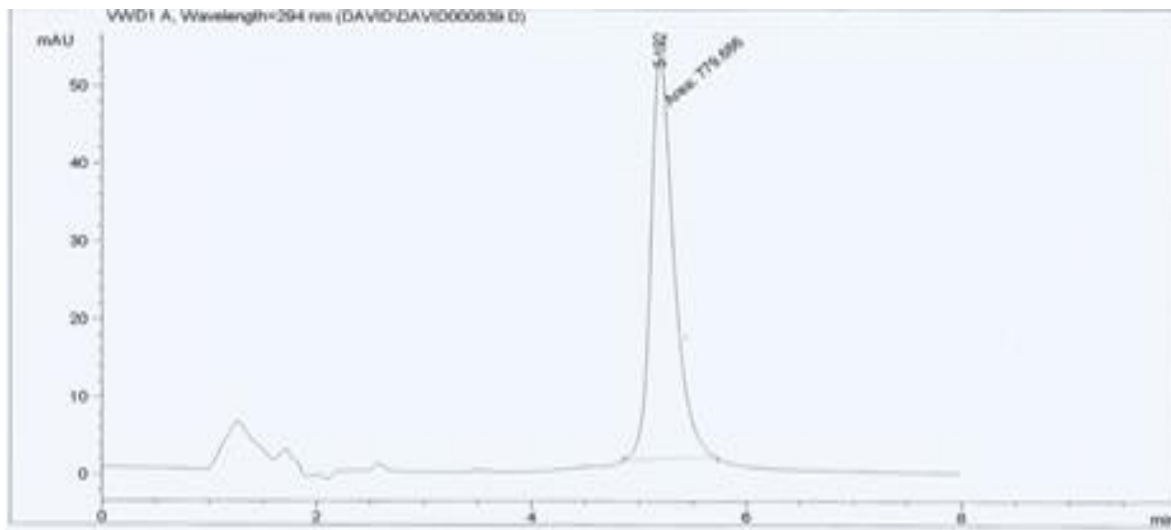
### 3.1 Cromatografía líquida de alta resolución con detector acoplado de UV/VIS (HPLC-UV/VIS)

#### 3.1.1. Fase móvil

En el estudio, se realizan pruebas, en base a la bibliografía consultada (11), con dos diferentes tipos de fases móviles: metanol, acetato amónico, acetonitrilo (5:25:70) y metanol, acetato amónico: 16:84. En función de los resultados obtenidos en cuanto a solapamientos, anchura de pico y tiempo de retención se elige esta última, que da señal para 2C-B a cinco minutos, como se observa en la figura (Fig 8) y anexo 6.2.

Los estudios se han realizado a la longitud de onda de 294 nm.

FIG 8



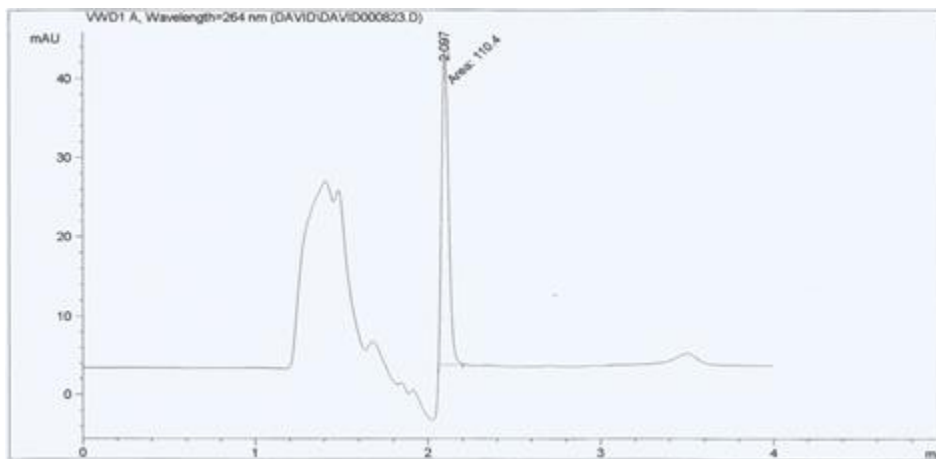
Determinación de (2C-B) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

A continuación se hace un estudio individualizado para cada uno de los posibles adulterantes: cafeína, lidocaína, cocaína, teobromina, teofilina y paracetamol, en las mismas condiciones de fase móvil y longitud de onda del detector que para la muestra de 2C-B. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla (tabla III) y en las figuras (9-14):

TABLA III

Compuesto	tR (min)
Lidocaína	2,097
Teobromina	2,108
Teofilina	2,360
Paracetamol	2,791
Cocaína	7,419
Cafeína	3,387

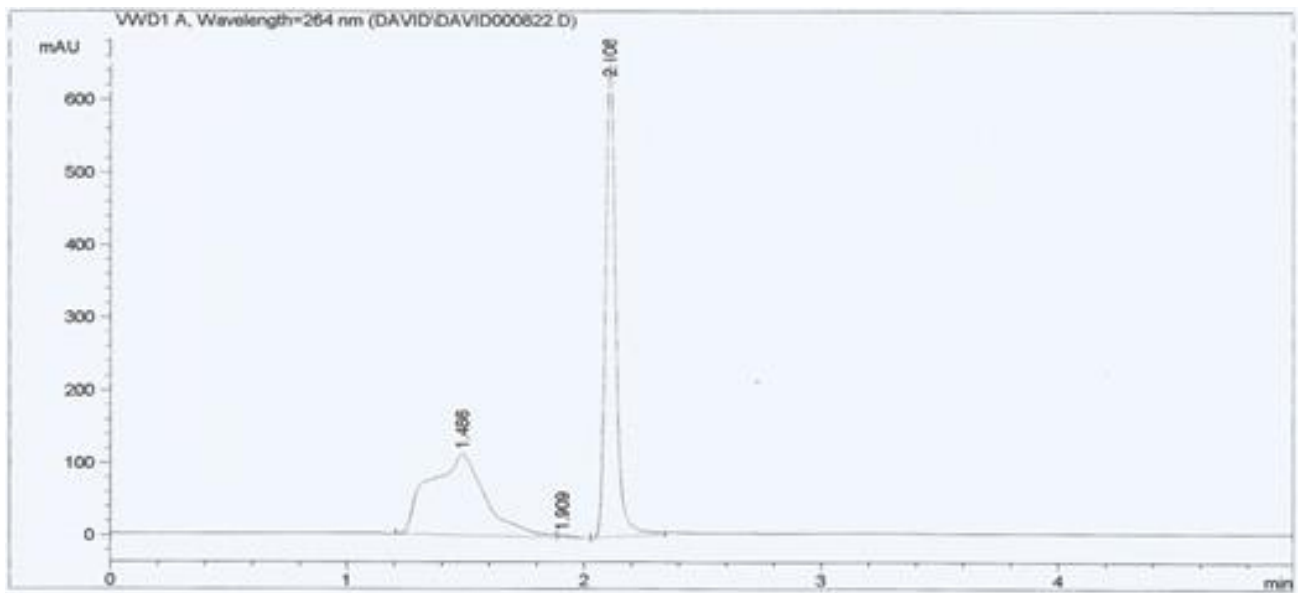
FIG(9)



Determinación de (lidocaína) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294 \text{ nm}$

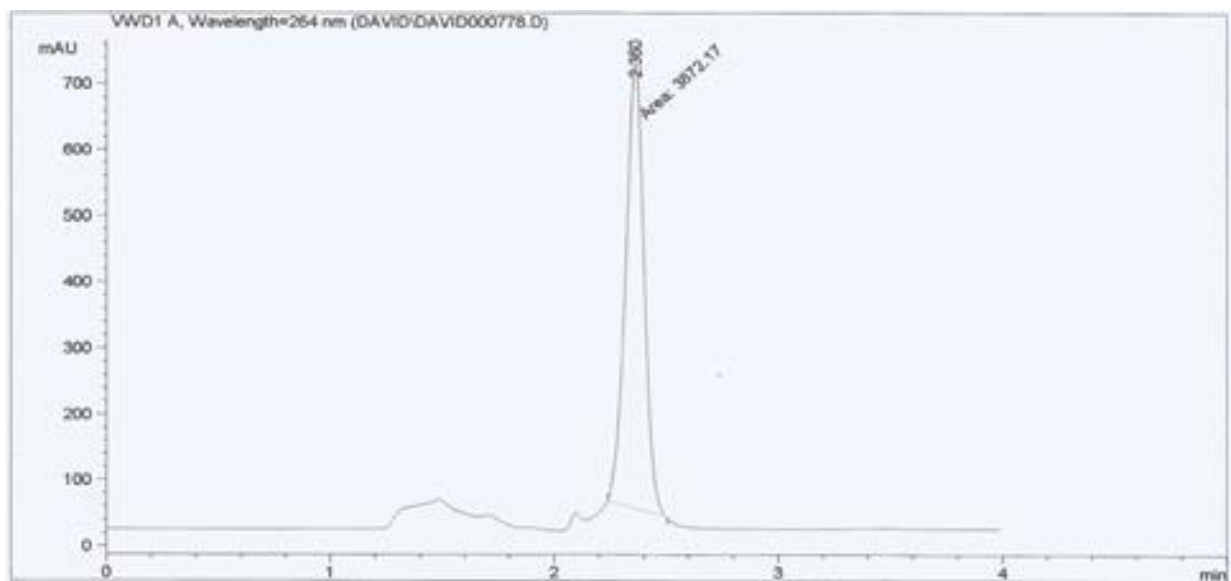


FIG(10)



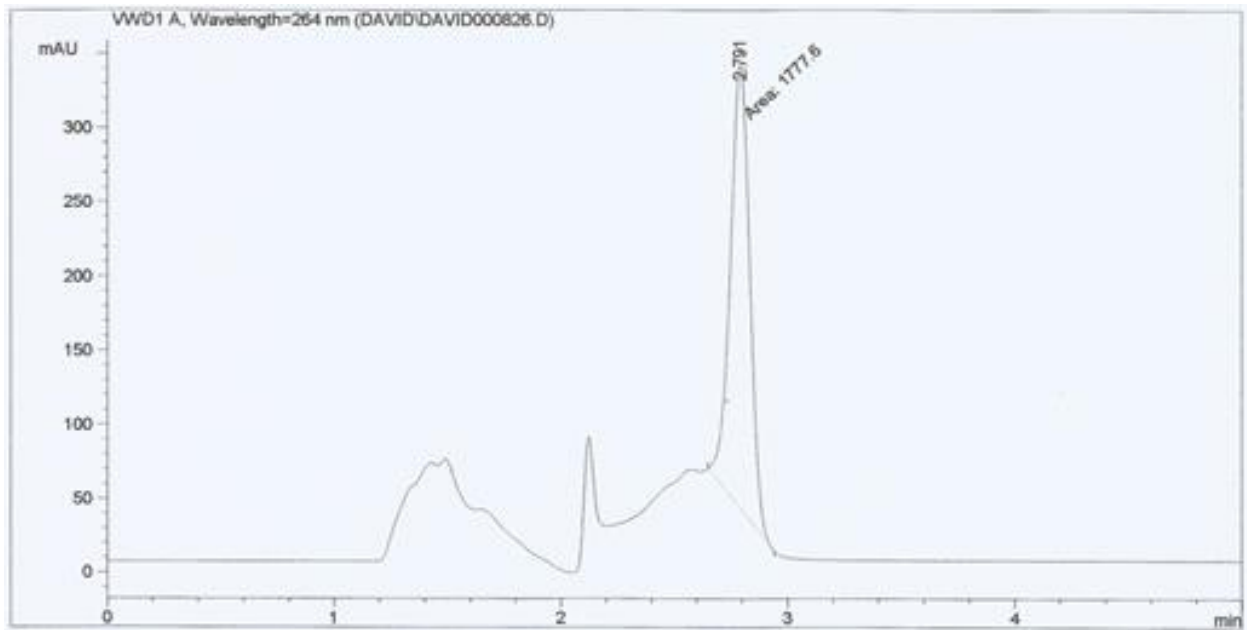
Determinación de (teobromina ) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(11)



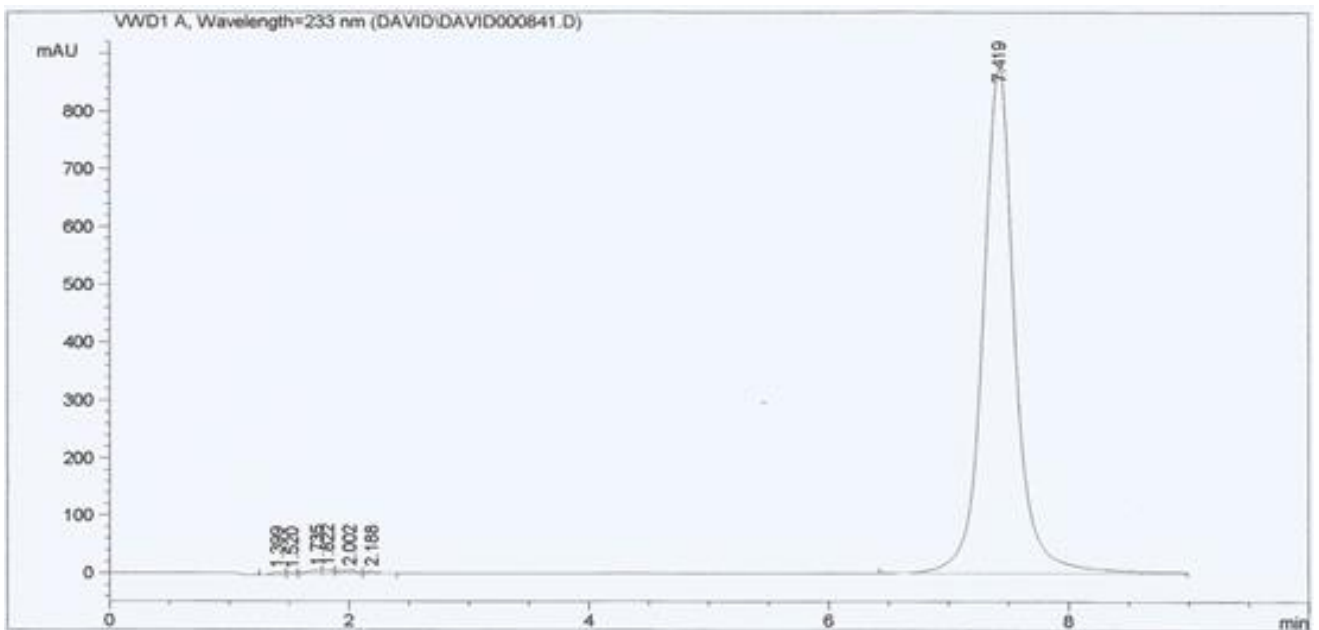
Determinación de (teofilina ) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(12)



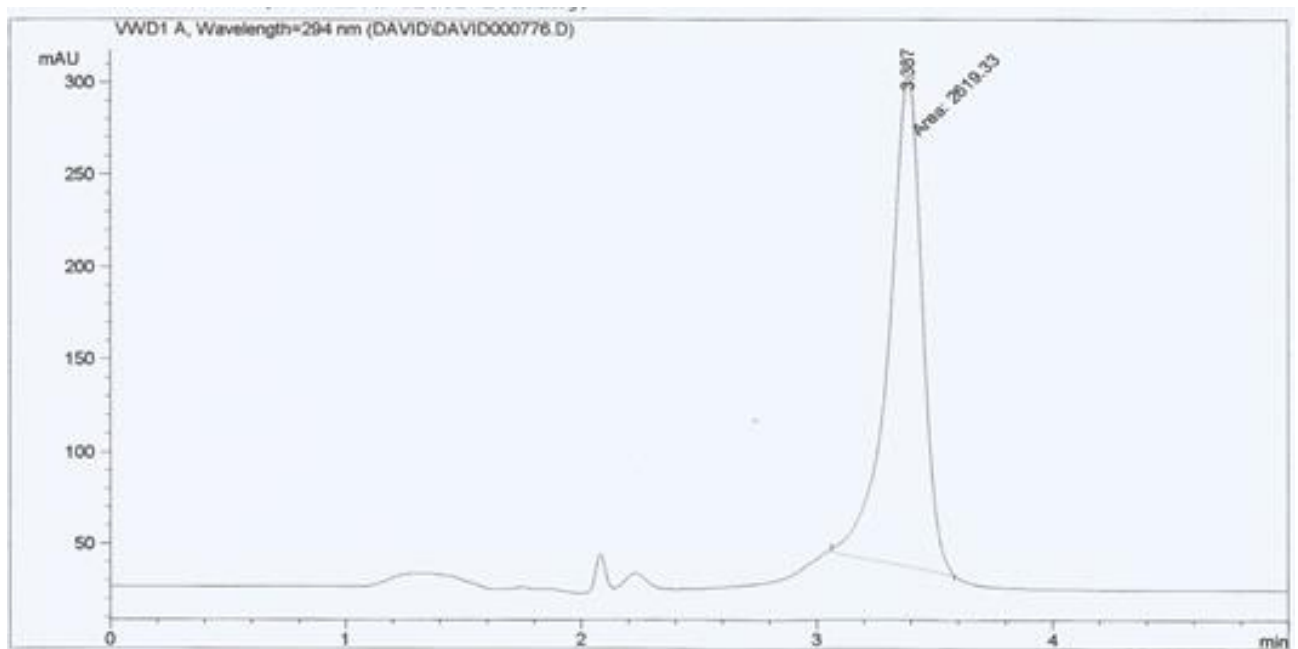
Determinación de (paracetamol ) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(13)



Determinación de (cocaína) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(14)



**Determinación de (cafeína) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm**

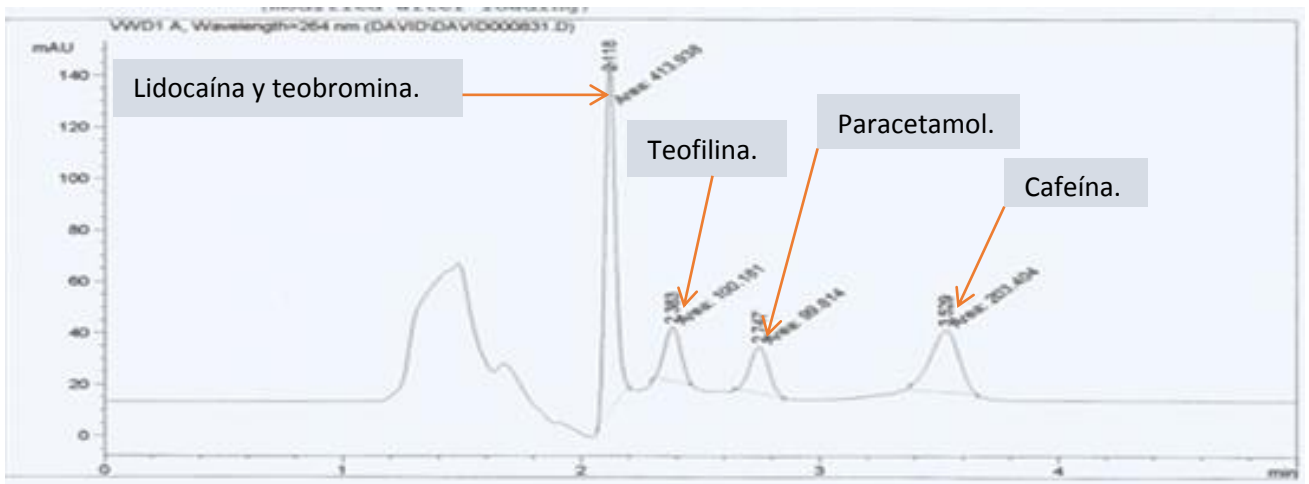
Por último, se procedió a realizar medidas de 2C-B con mezcla de adulterantes, para comprobar la posibilidad de determinar este en presencia de otros compuestos.

Debido a que la cantidad de muestras disponibles en 2C-B y cocaína es mínima, dependen de la correspondiente autorización, y dado que una de las problemáticas que pueden plantearse a efectos de la administración, es principalmente su mezcla con cocaína, se deciden hacer primero un análisis por separado de una mezcla de adulterantes, salvo cocaína y 2C-B, y después, solo de estos dos componentes. Los resultados obtenidos en los dos ensayos, se muestran en la siguiente tabla IV y en las figuras (15 y 16):

**TABLA IV**

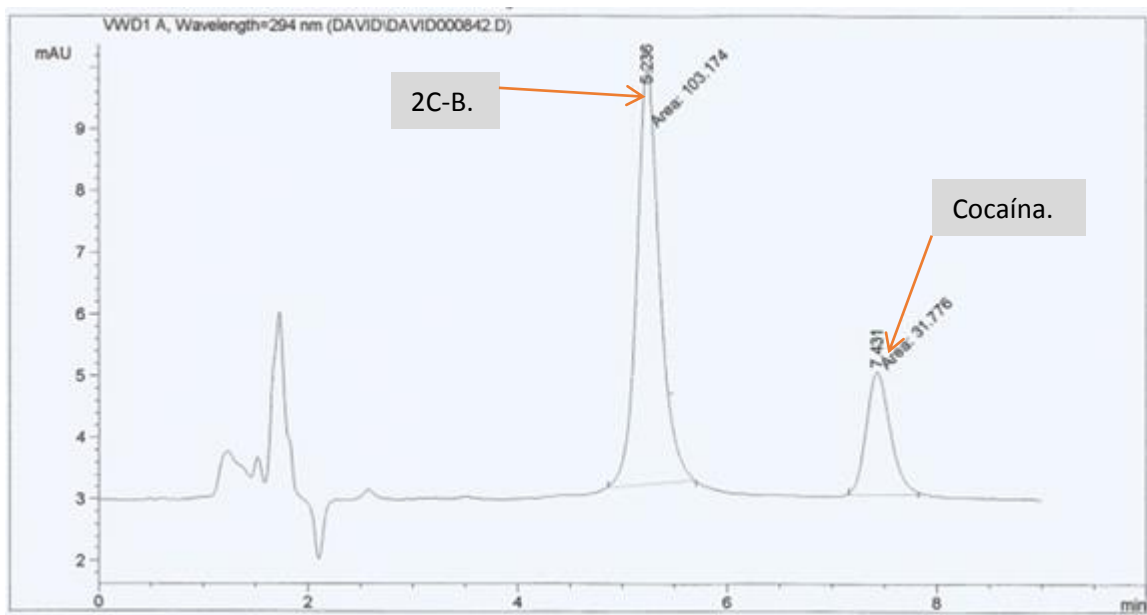
Compuesto	tR (min)
2C-B	5,236
Lidocaína	2,118
Teobromina	2,118
Teofilina	2,383
Paracetamol	2,747
Cocaína	7.431
Cafeína	3,529

**FIG(15)**



Determinación de (adulterantes estudiados) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294 \text{ nm}$

FIG(16)



Determinación de (2C-B + cocaína) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

Aunque las determinaciones se han hecho por separado debido a la poca cantidad de muestra disponible, como anteriormente se ha indicado, no hay razón para pensar que los tiempos de retención sufran modificación cuando se encuentren todos presentes, por lo que extrapolamos los resultados.

Todos los compuestos aparecen a tiempos de retención diferentes, excepto lidocaína y teobromina que no se separan en las condiciones elegidas, sin embargo, 2C-B y cocaína, aparecen a tiempos de retención perfectamente diferenciados 5,236 y 7,431 minutos respectivamente.

En base a los resultados obtenidos, se concluye que 2C-B podría ser determinada en presencia de estos adulterantes por (HPLC/UV/VIS).

## 3.2. Cromatografía de gases (GC-FID)

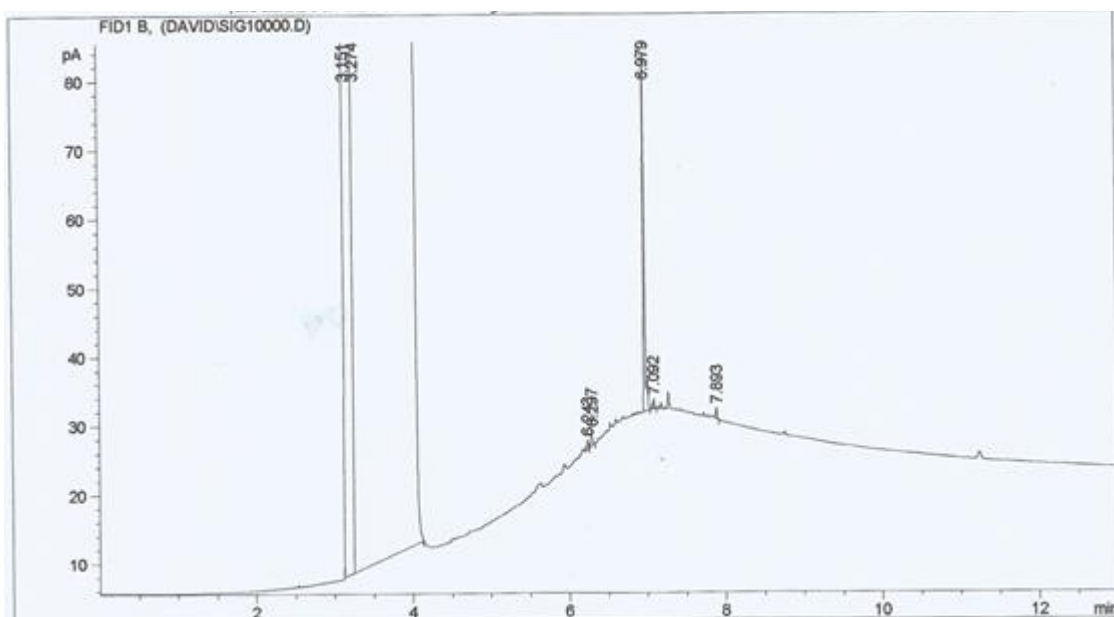
### 3.2.1. Preparación de la muestra

Se pesan  $2,55 \pm 0,01$  mg de muestra, se disuelve en metanol, se añade HCl 0,01M hasta pH ácido y se enrasa con metanol en un matraz de 50,0 ml. Se toman alícuotas de esta disolución y se llevan al volumen adecuado, obteniendo disoluciones cuyas concentraciones están comprendidas entre 1 y 20 ppm.

### 3.2.2. Estudio de las condiciones de trabajo

Como en el caso anterior, en base a la bibliografía consultada (11), se eligen inicialmente las condiciones de trabajo; en dichas condiciones, se hacen estudios previos con patrones de 2C-B. De los citados estudios, se selecciona la que nos proporciona mejores resultados: volumen de inyección de la muestra  $1\mu\text{l}$ , temperatura del portal de inyección  $265^{\circ}\text{C}$ , temperatura del horno  $220^{\circ}\text{C}$  y temperatura del detector  $275^{\circ}\text{C}$ , obteniendo una señal a un tiempo de retención de 6,979 minutos, como se refleja en la figura 17 y en anexos 6.3.

FIG(17)



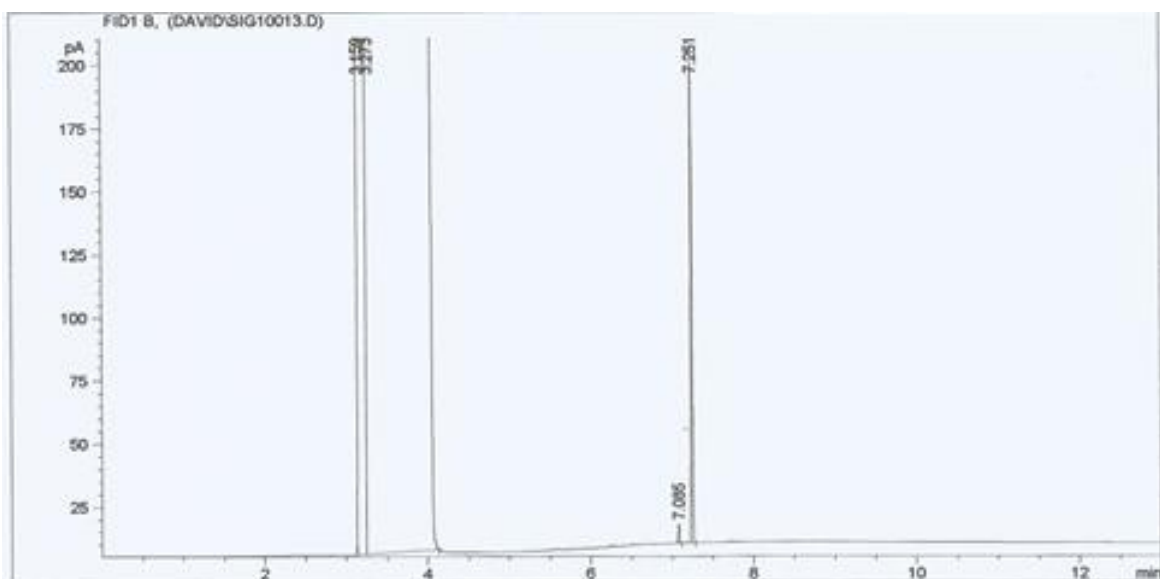
Determinación de (2C-B), T<sup>a</sup> Portal inyección=265°C, T<sup>a</sup> Horno=220°C y T<sup>a</sup> Detector=275°C

A continuación, de forma individual y en las mismas condiciones, se analizan los compuestos que en nuestro estudio se consideran como posibles componentes en muestras ilegales. Los resultados se muestran en la tabla V y figuras (18-23).

**TABLA V**

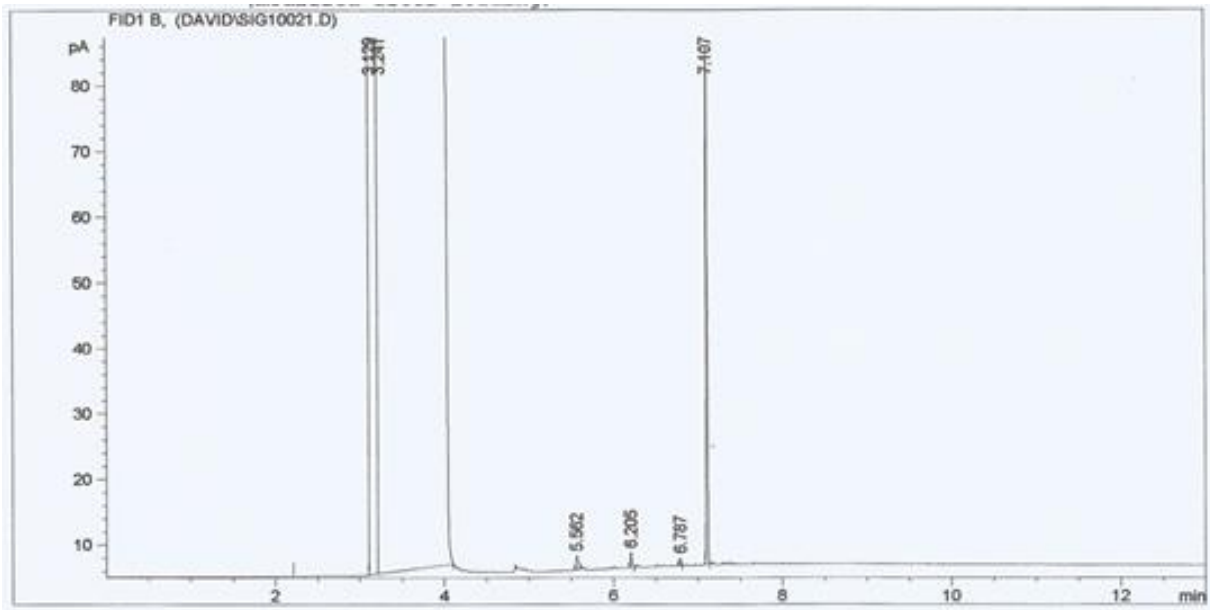
Compuesto	T <sub>R</sub> (minutos)
Lidocaína	7.251
Teofilina	7.524
Teobromina	7.178
Paracetamol	6.584
Cafeína	7.107
Cocaína	6.235

**FIG(18)**



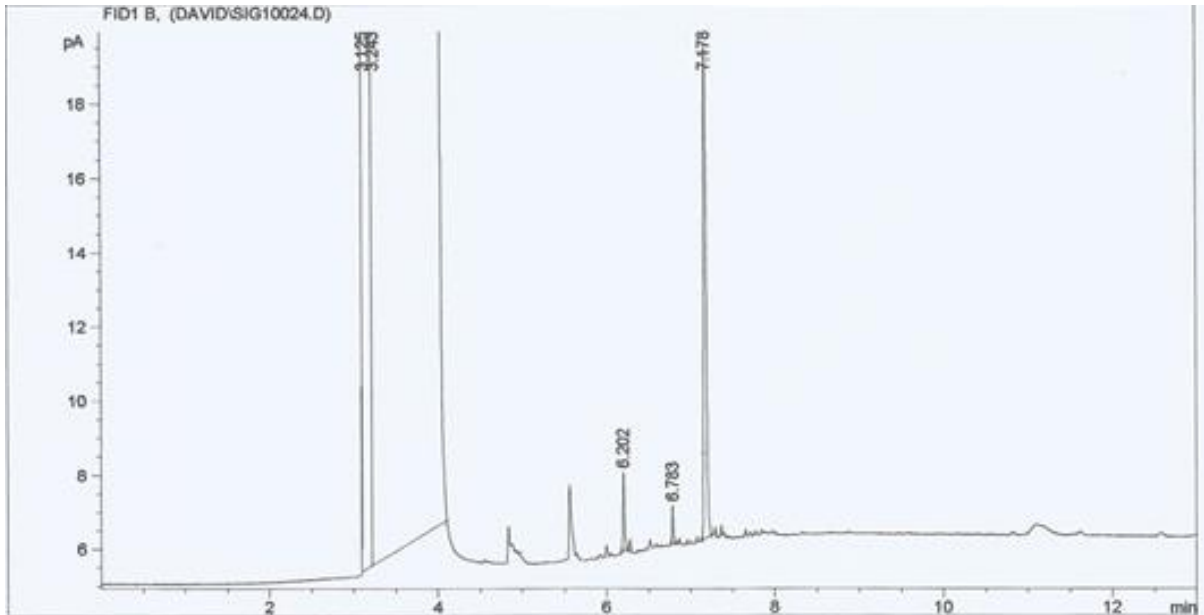
**Determinación de (lidocaína) T<sup>a</sup> Portal inyección=265°C, T<sup>a</sup> Horno=220°C y T<sup>a</sup> Detector=275°C**

FIG(19)



Determinación de (cafeína) T<sup>a</sup> Portal inyección=265°C, T<sup>a</sup> Horno=220°C y T<sup>a</sup> Detector=275°C

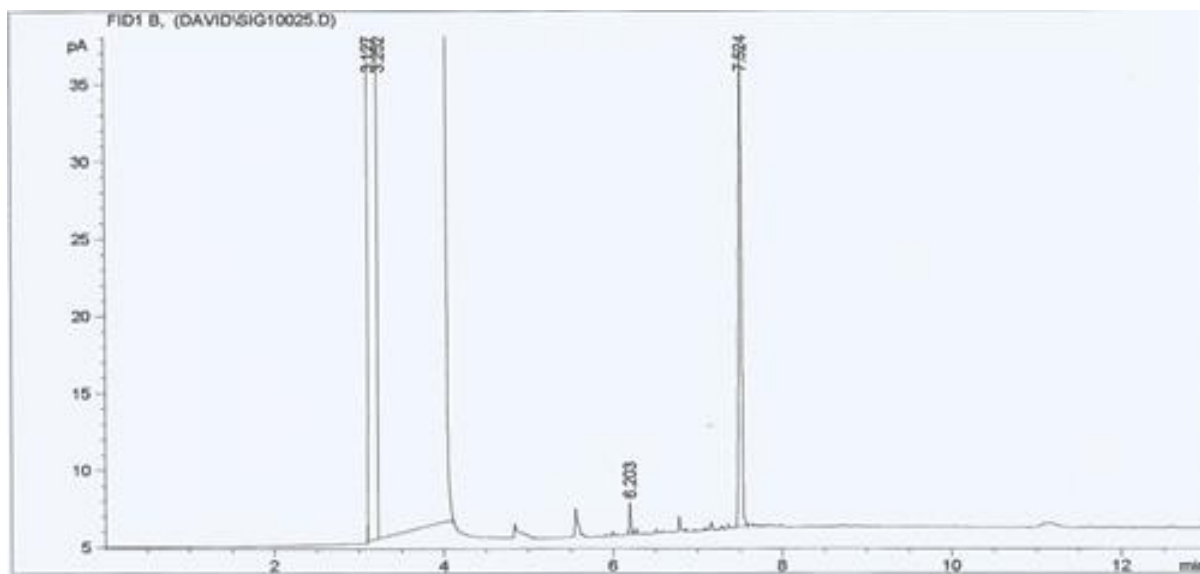
FIG(20)



Determinación de (teobromina) T<sup>a</sup> Portal inyección=265°C, T<sup>a</sup> Horno=220°C y T<sup>a</sup> Detector=275°C

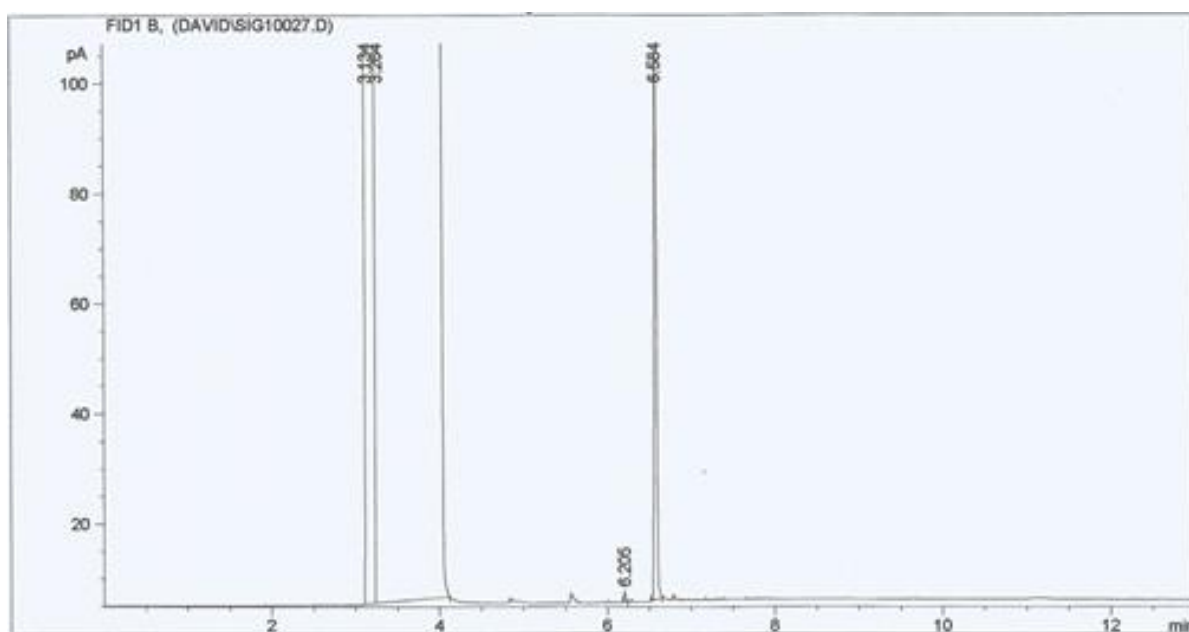


FIG(21)



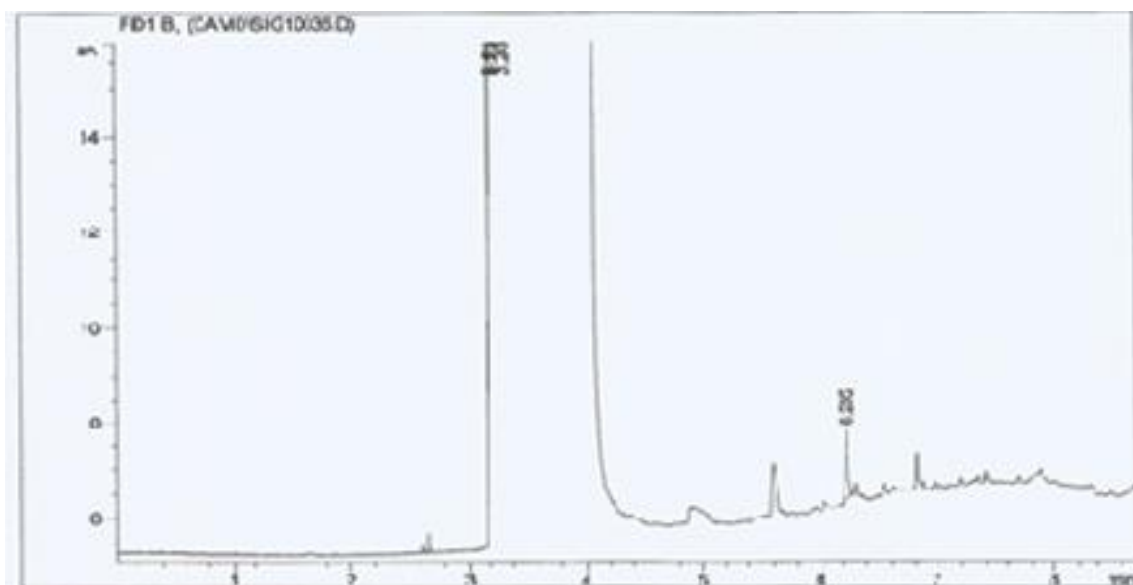
Determinación de (teofilina) T<sup>a</sup> Portal inyección=265°C, T<sup>a</sup> Horno=220°C y T<sup>a</sup> Detector=275°C

FIG(22)



Determinación de (paracetamol) T<sup>a</sup> Portal inyección=265°C, T<sup>a</sup> Horno=220°C y T<sup>a</sup> Detector=275°C

FIG(23)



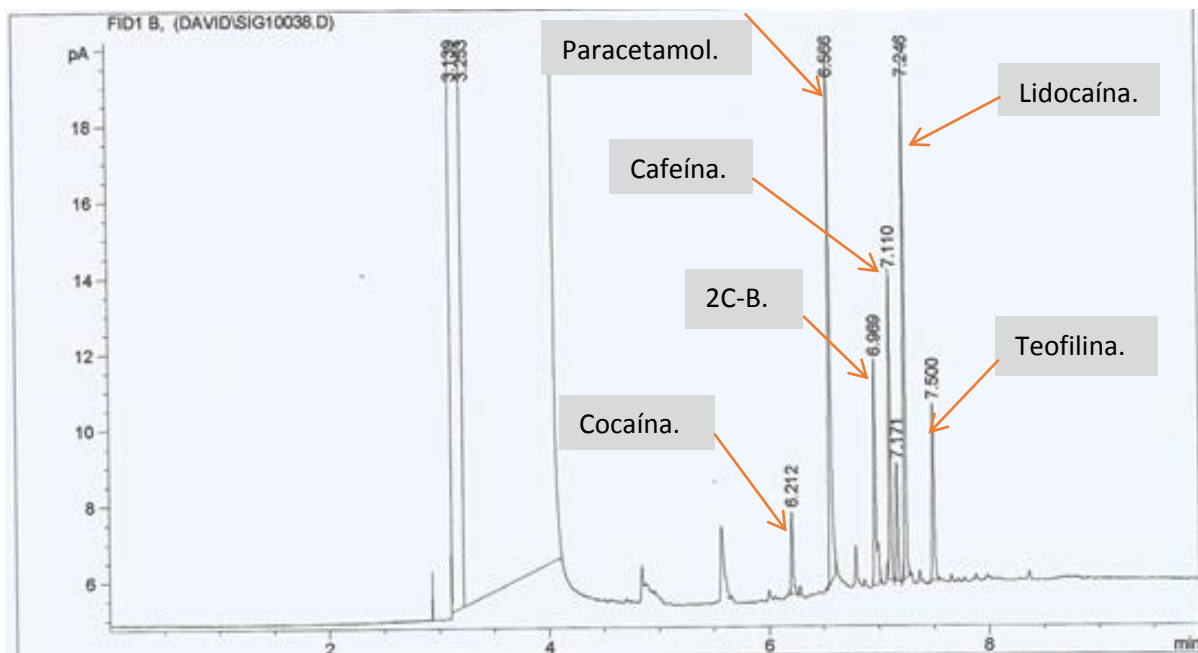
Determinación de (cocaína) T<sup>a</sup> Portal inyección=265°C, T<sup>a</sup> Horno=220°C y T<sup>a</sup> Detector=275°C

Por último, y en las condiciones anteriormente indicadas, se procede a una determinación conjunta de todos ellos. La respuesta de 2C-B se obtiene a un tiempo de retención de 6.969 minutos, bien definida y separada de los demás componentes de la mezcla. Los resultados se reflejan en la Tabla (VI) y en las figura 24.

Tabla VI

Compuesto	T <sub>R</sub> (minutos)
2C-B	6.969
Lidocaína	7.246
Teofilina	7.500
Teobromina	7.171
Paracetamol	6.566
Cafeína	7.110
Cocaína	6.212

FIG(24)



Determinación de (2C-B + todos los adulterantes) T<sup>a</sup> Portal inyección=265°C, T<sup>a</sup> Horno=220°C y T<sup>a</sup> Detector=275°C

Como se puede observar en el anterior cromatograma, 2C-B puede ser determinado en presencia de todos los posibles adulterantes estudiados, con un tiempo de retención de 6,969 minutos. El pico de 2C-B sale bien definido y no se enmascara con ningún otro compuesto, por lo que GC/FID sería un buen método para separar y determinar este compuesto.

## 4. CONCLUSIONES

- 1) Se ha realizado un estudio por absorción molecular UV/VIS para determinar las longitudes de onda de absorción de 2C-B y los compuestos, lidocaína, teobromina, teofilina, paracetamol, cafeína y cocaína, calificados como adulterantes. Se elige, a efectos de minimizar interferencias, la longitud de onda de 294 nm para realizar su determinación por HPLC.
- 2) Se ha determinado la droga 2C-B, en presencia de otros compuestos como posibles adulterantes de la misma, utilizando cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de UV/VIS (HPLC/UV/VIS), su separación y determinación se produce a un tiempo de retención de 5,236 minutos con un límite de detección de 0,1 ppm
- 3) Se ha determinado 2C-B, en presencia de otros compuestos como posibles adulterantes de la droga, utilizando cromatografía de gases con detector FID (GC/FID) la separación y determinación de 2C-B se produce a un tiempo de retención de 6,969 minutos con un límite de detección de 0,3 ppm.
- 4) Como conclusión general, indicamos que, ambos métodos podrían ser adecuados para determinar esta sustancia, aunque consideramos que la cromatografía de gases presenta mayores ventajas, no solo en cuanto a la separación de los componentes, señales mejor definidas, sino también a la menor dificultad en la puesta a punto del método GC/FID

## 5. BIBLIOGRAFÍA

1. Shulgin A. T, Carter M. F. Centrally active phenethylamines. *Psychopharmacology communications*, 1(1), 93-98. 1975
2. Shulgin A, 1975 2C-B; 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine. In: Joy D, editor. *PIHKAL, chemical love story*. Berkeley, CA: Transform Press, 1991, 503–6.
3. Shulgin A, 1975 2C-B; 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine. In: Joy D, editor. *TIHKAL, The Continuation*. Berkeley, CA: Transform Press, 1997, 804.
4. Kanamori Tatsuyuki, Tsujikawa Kenji, Ohmae Yoshihito, Iwata Yuko, Inoue Hiroyuki, Inoue Yoshio and KishiTohru, 2003. Excretory profile of 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine ( 2C-B ) in rat. *Journal of Health Science* 49(2), 166-169.
5. Theobald Denis S. ,Fritsch-Giselher, Maurer Hans H. , 2007. Studies on the toxicological detection of the designer drug 4-bromo-2,5-dimethoxy-  $\beta$ -phenethylamine (2C-B) in rat urine using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 846, 374-377.
6. Maurer H. H, Maurer C. L. Systematic toxicological analysis of drugs and their metabolites by gas chromatography—mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 580. 3-14. 1992.
7. KanamoriTatsuyuki, Nagasawa Kyoko, Kuwayama Kenji, Tsujikawa Kenji, Iwata Yuko T. and Inoue Hiroyuki, 2013. Analysis of 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine Abuser’s Urine: Identification and Quantitation of Urinary Metabolites. *Journay of Forensic Sciences* 58,No. 1
8. Kerrigan Sarah, Mott Ashley, Bryand Kelsie, 2014. Designer Psychostimulants in Urine by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Forensic Sciences*. Vol 59, No 1
9. KanamoriTatsuyuki, Tsujikawa Kenji, Ohmae Yoshihito, Iwata Yuko, Inoue Hiroyuki, Inoue Yoshio, KishiTohru and Nakahama T. , 2005. A study of the metabolism of methamphetamine and 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in isolated rat hepatocytes. *Forensic Science International* 148, 131-137.
10. Carmo Helena ,HengstlerJan G. , de BoerDouwe, Ringel Michael , Remião Fernando, Carvalho Félix, 2005. Metabolic pathways of 4-bromo-2,5-dimethoxyphenetylamine (2C-B) : analysis of phase I metabolism with hepatocytes of six species including human. *Toxicology* 206, 75-79.
11. *Journal of the United Nations*. Latest Revision: August 22, 2005

### **Páginas web**

[1] <https://www.energycontrol.org/infodrogas/2cb.html>

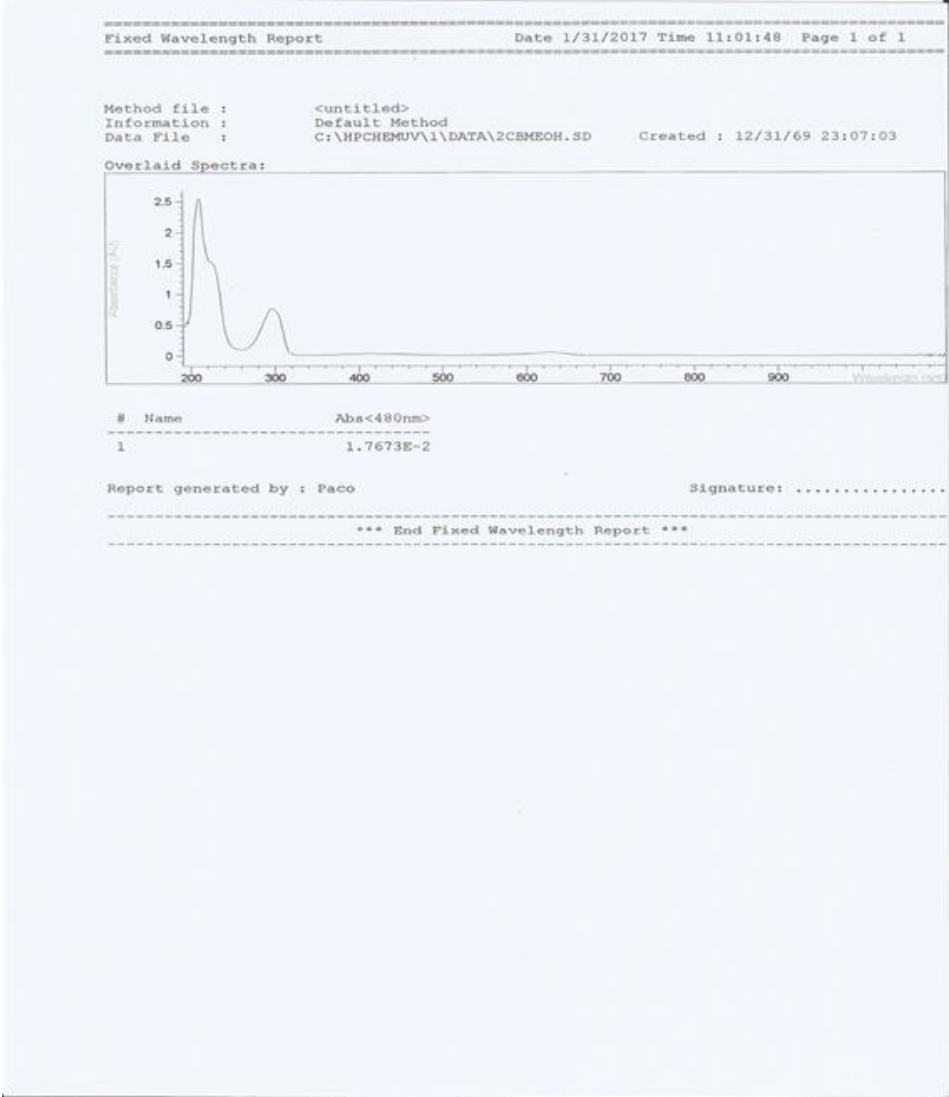
[2] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3657019/>

[3] <https://revistas.upb.edu.co/index.php/Medicina/article/viewFile/7149/6533>

## 6. ANEXOS

# 6.1 ESPECTROSCOPIA UV/VIS.

FIG(25)

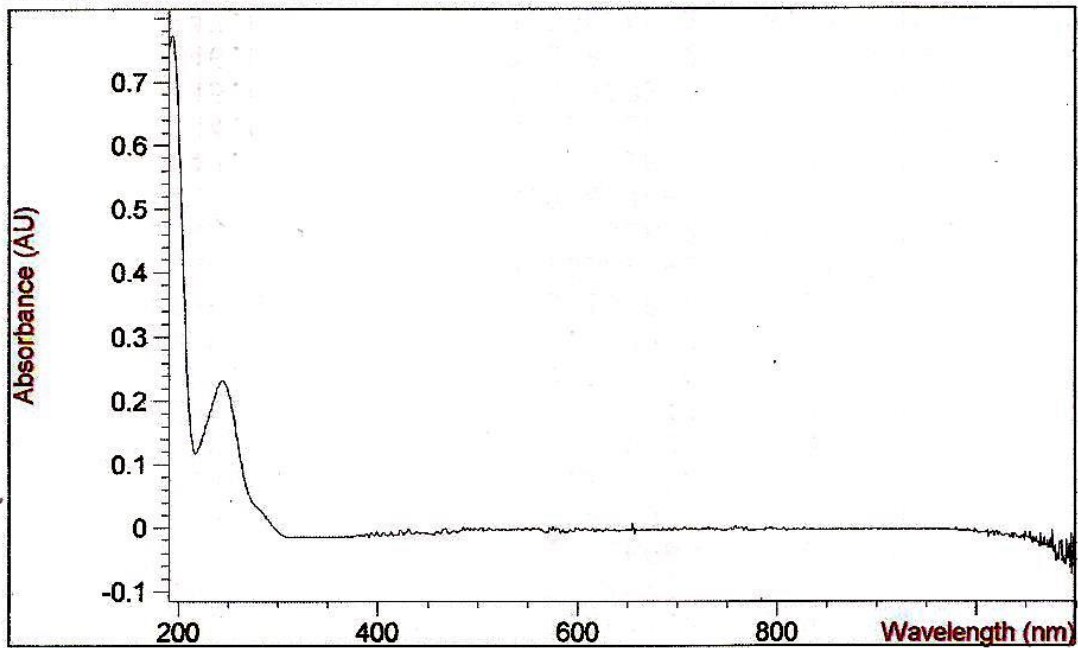


Espectro de absorción UV-VIS de 2C-B



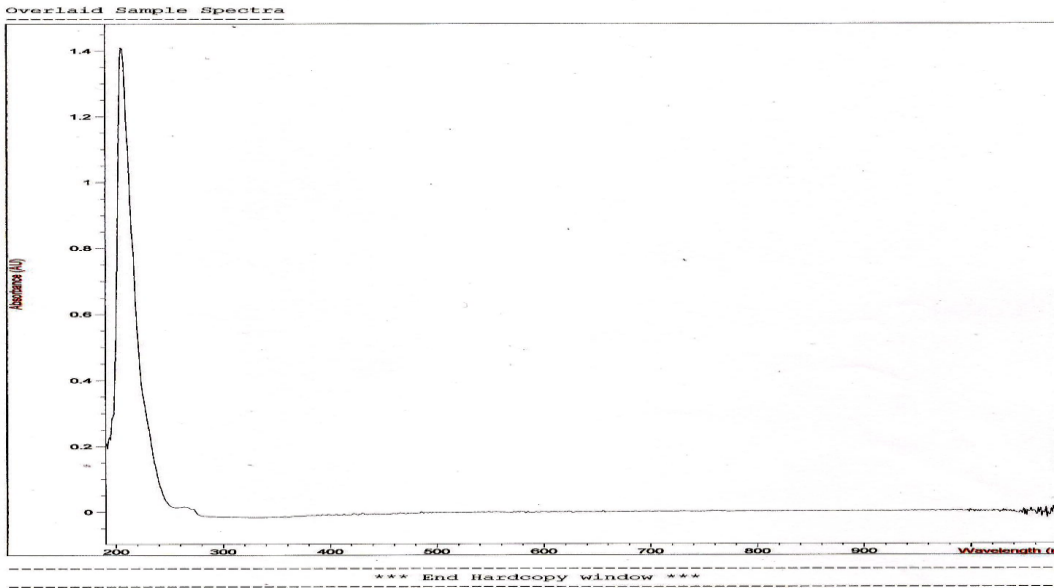
FIG(26): Paracetamol

Overlaid Sample Spectra



Espectro de absorción UV-VIS de Paracetamol

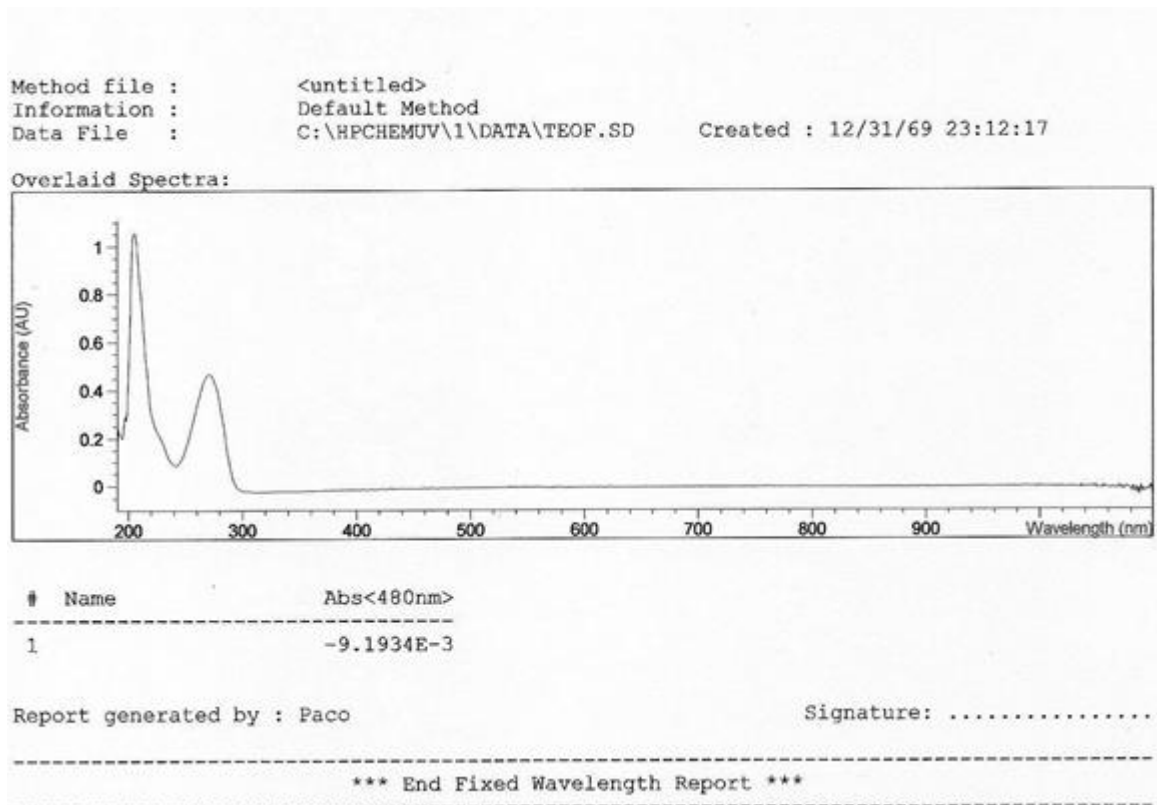
FIG(27)



Espectro de absorción UV-VIS de Lidocaína

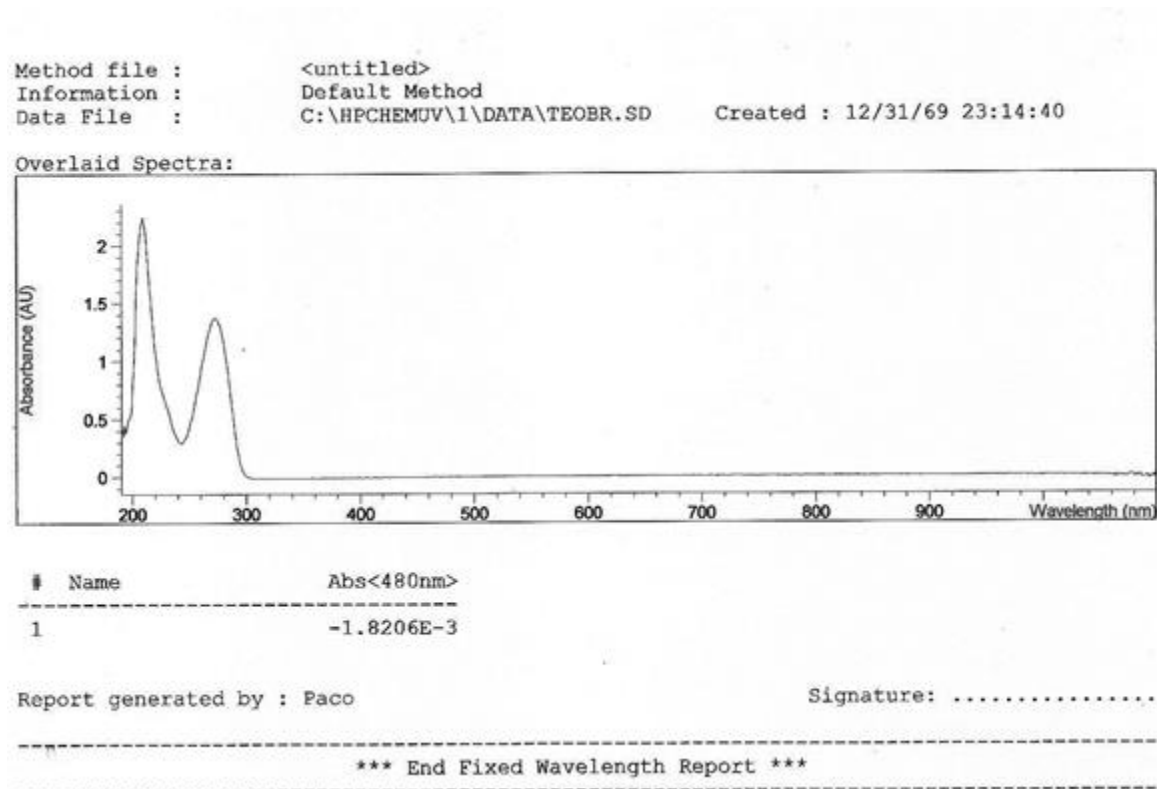


FIG(30): Teofilina



Espectro de absorción UV-VIS de teofilina

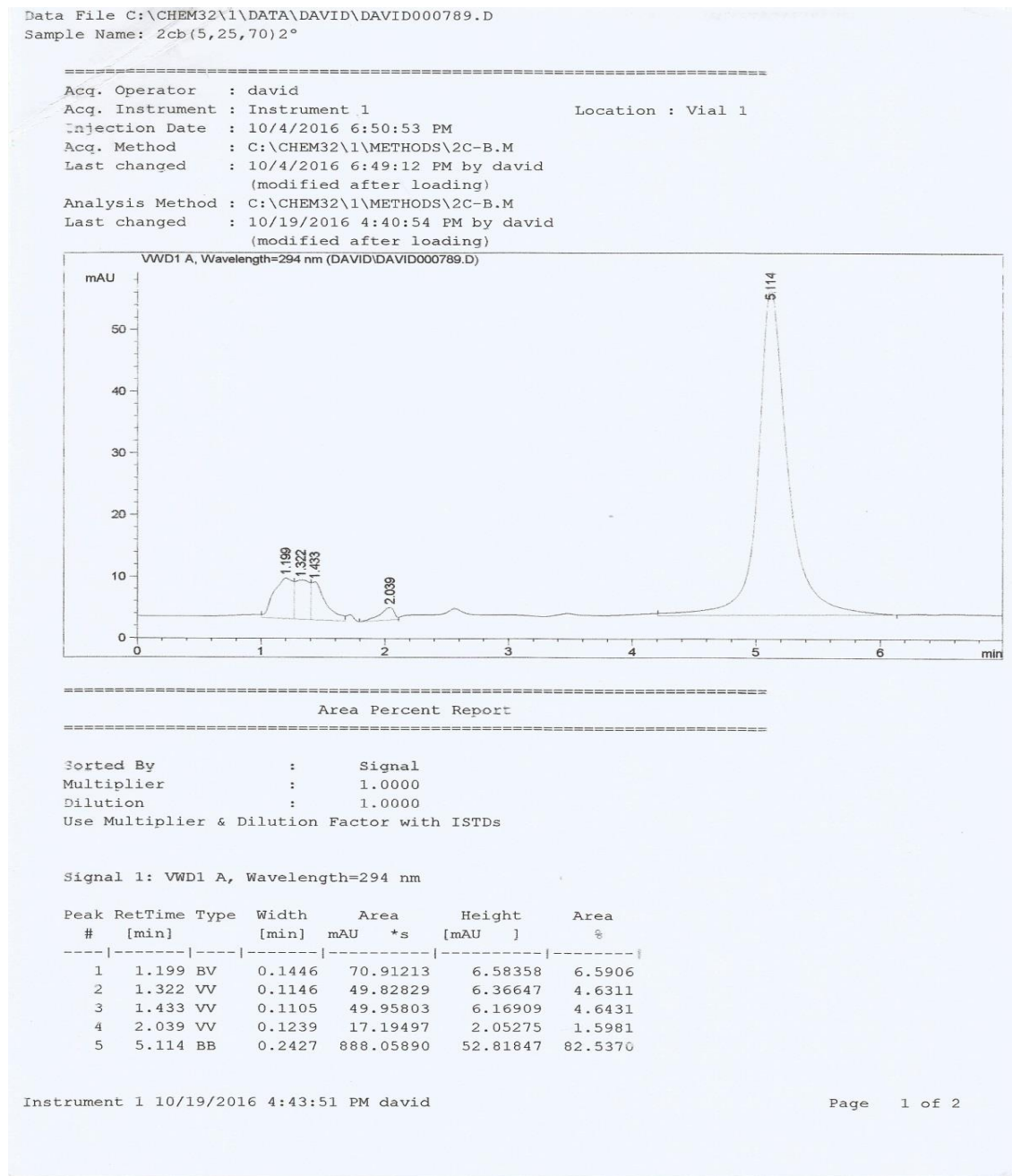
FIG(31)



Espectro de absorción UV-VIS de Teobromina

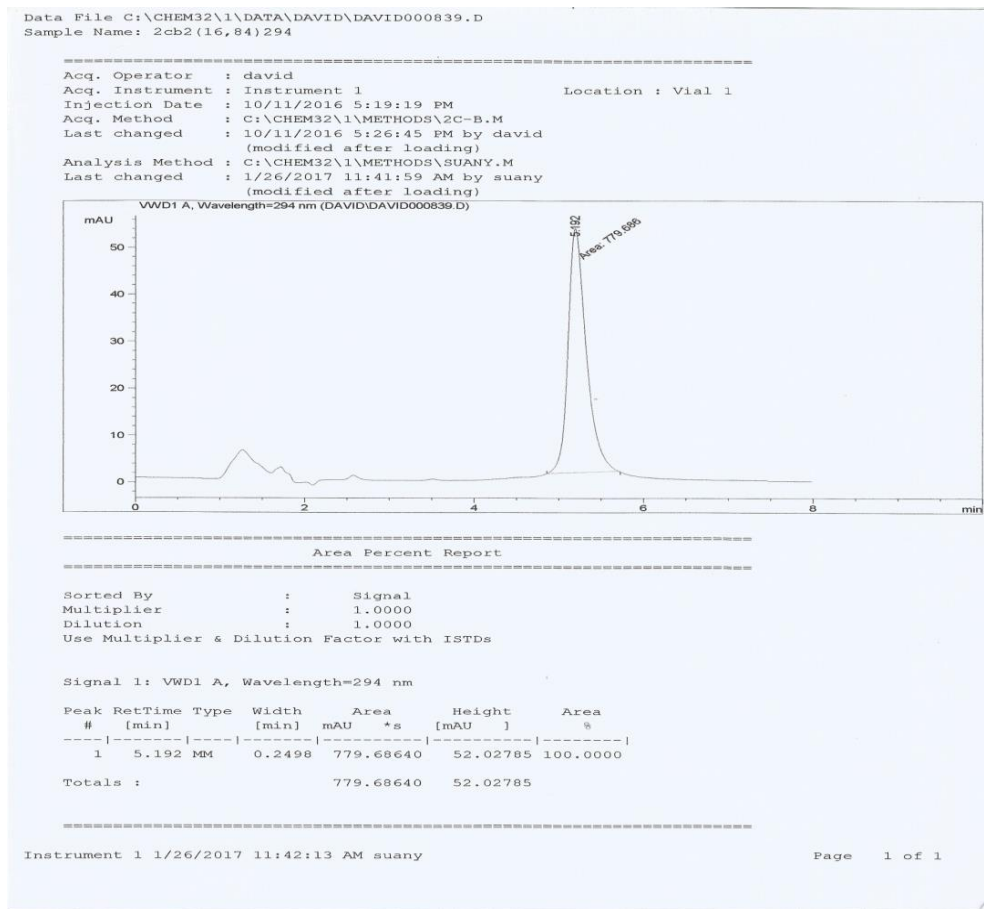
## 6.2. CROMATOGRAMAS HPCL.

FIG(32)



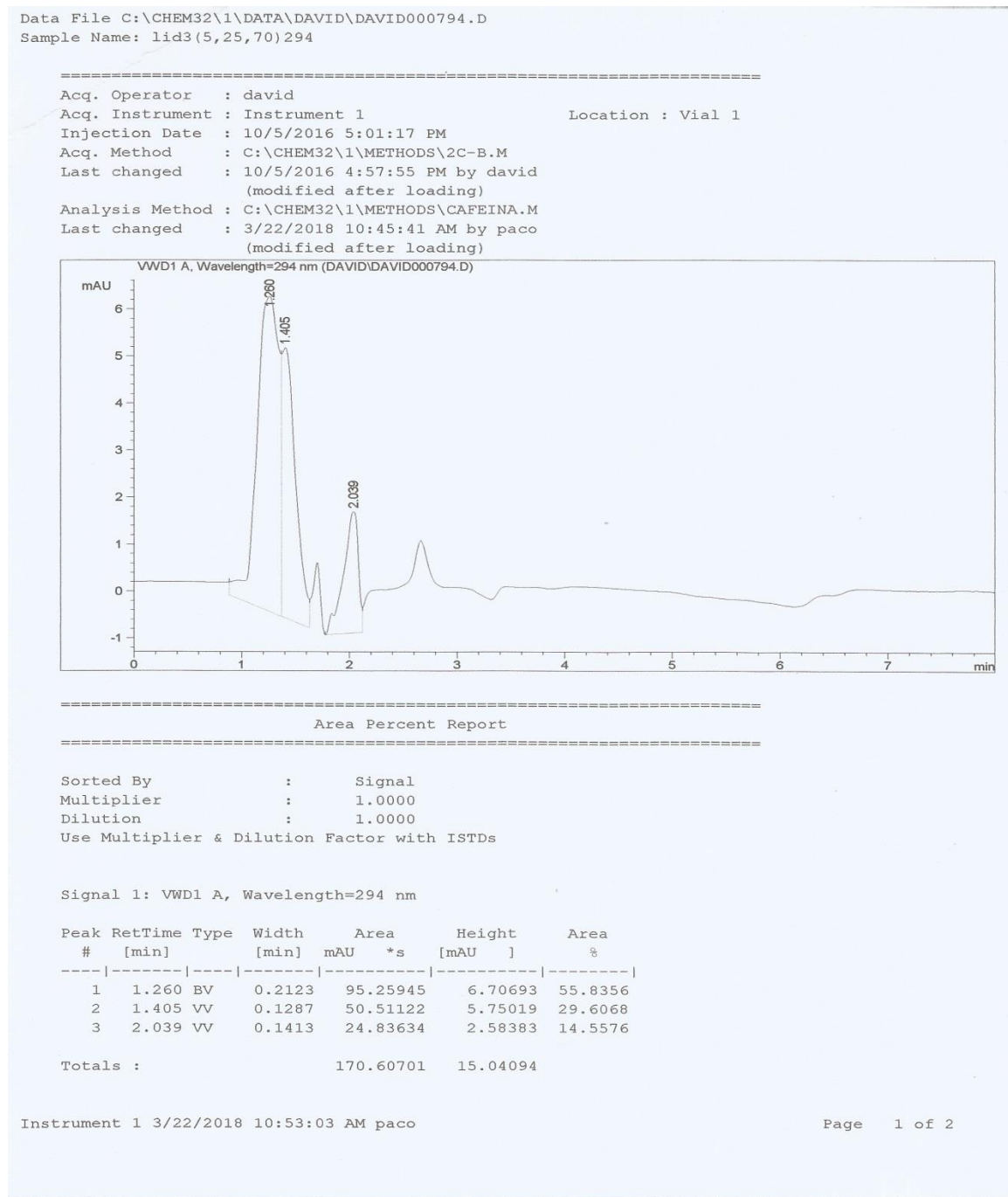
Determinación de (2C-B) con fase móvil: metanol, acetato amónico, acetonitrilo 5:25:70 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(33)



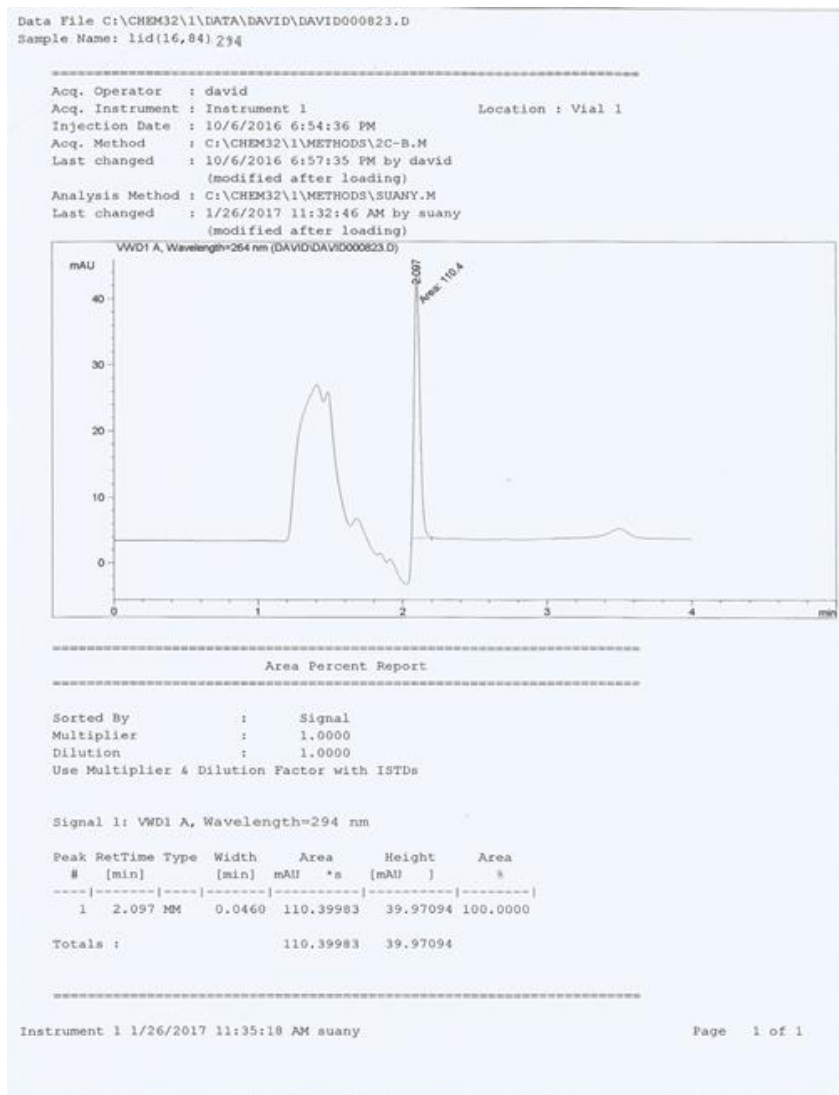
Determinación de (2C-B) con fase móvil:metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(34)



Determinación de (lidocaína) con fase móvil: metanol, acetato amónico, acetonitrilo 5:25:70 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(35)



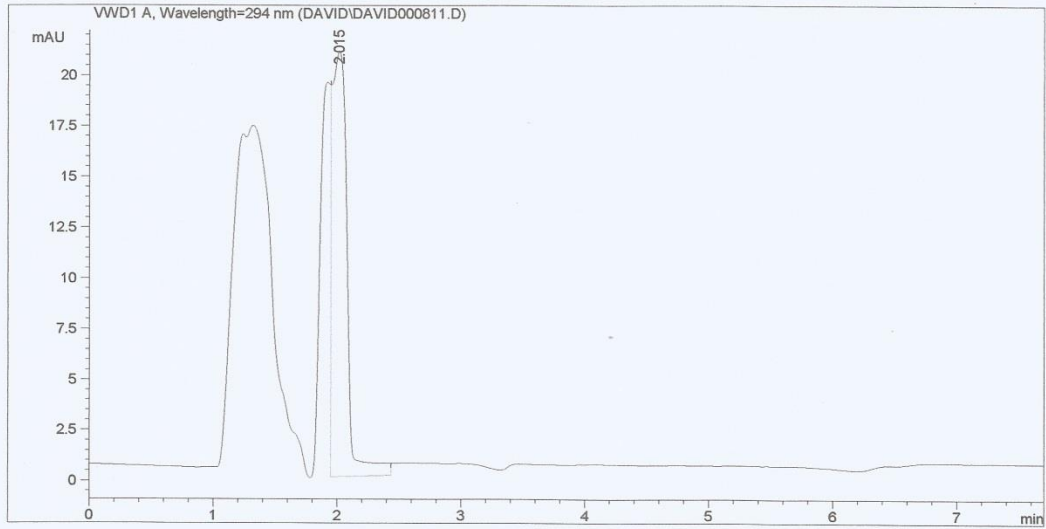
Determinación de (lidocaína ) con fase móvil:metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm



FIG(36)

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DAVID\DAVID000811.D  
Sample Name: teobr(5,25,70)294

=====  
Acq. Operator : david  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 10/6/2016 4:52:35 PM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\2C-B.M  
Last changed : 10/6/2016 5:00:04 PM by david  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAFEINA.M  
Last changed : 3/22/2018 10:58:55 AM by paco  
(modified after loading)



=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: WVD1 A, Wavelength=294 nm

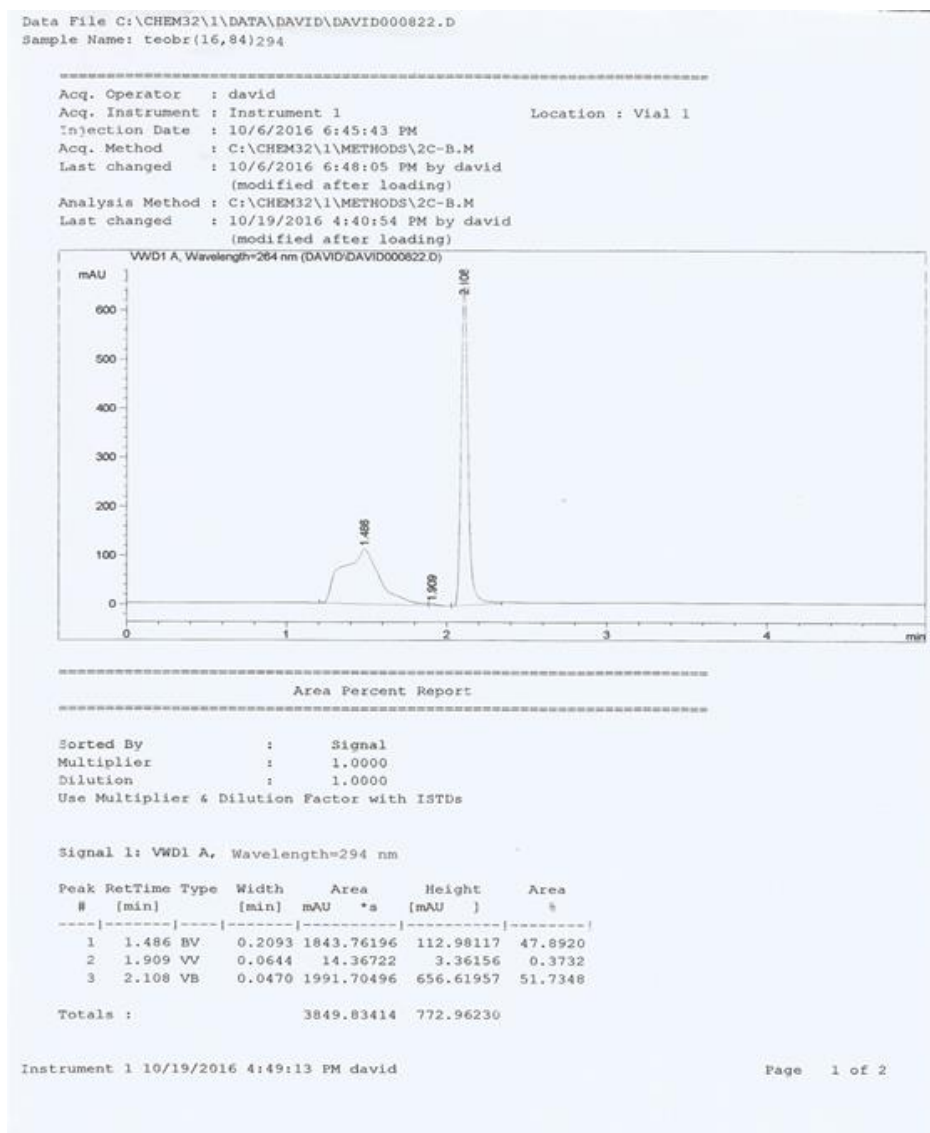
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU*s	Height [mAU]	Area %
1	2.015	VB	0.1269	175.78752	20.98003	100.0000

Totals : 175.78752 20.98003

Determinación de (teobromina ) con fase móvil: metanol, acetato amónico, acetonitrilo 5:25:70 y  $\lambda = 294 \text{ nm}$



FIG(37)

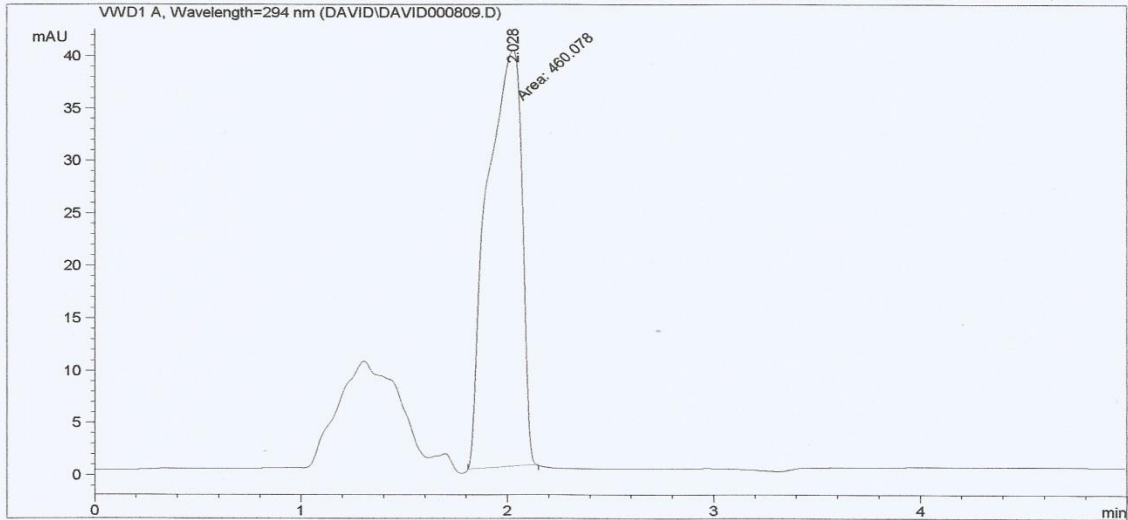


Determinación de (teobromina ) con fase móvil:metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(38)

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DAVID\DAVID000809.D  
Sample Name: teof(5,25,70)294

=====  
Acq. Operator : david  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 10/6/2016 4:40:17 PM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\2C-B.M  
Last changed : 10/6/2016 4:39:03 PM by david  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\SUANY.M  
Last changed : 1/26/2017 11:28:45 AM by suany  
(modified after loading)  
=====



=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

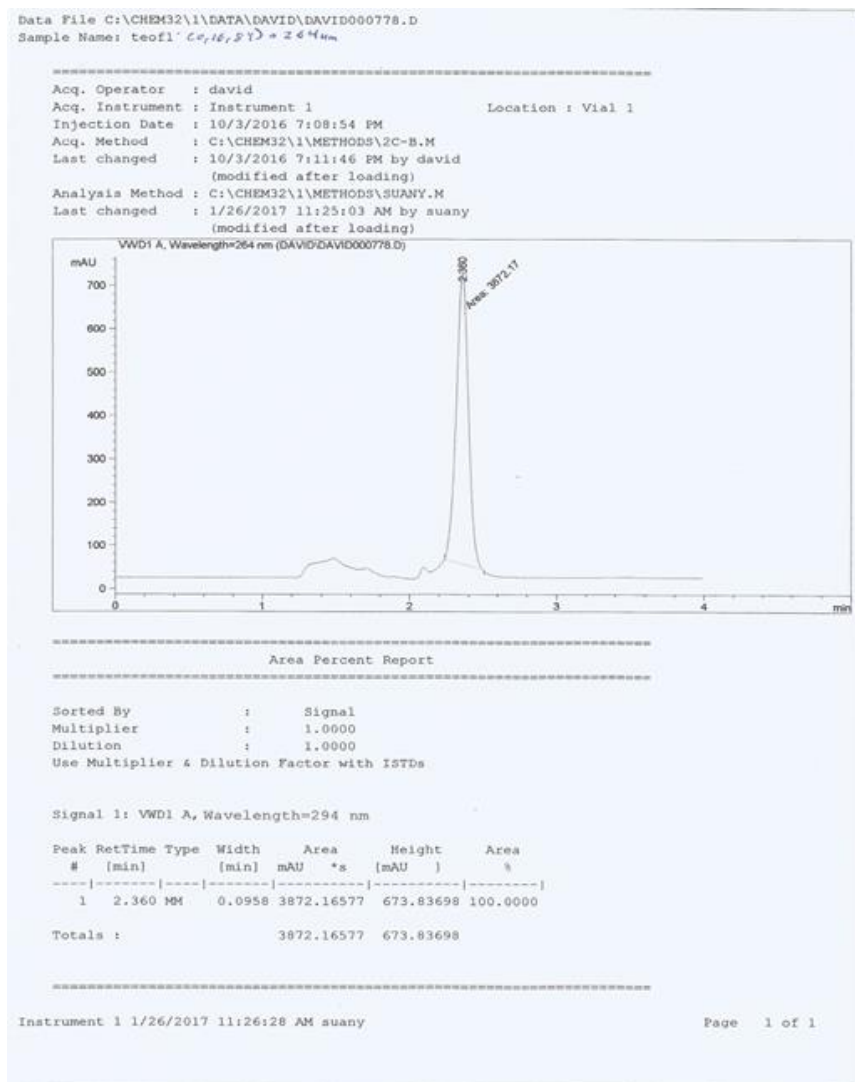
Signal 1: VWD1 A, Wavelength=294 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Height [mAU]	Area %
1	2.028	MM	0.1929	460.07806	39.74121	100.0000

Totals : 460.07806 39.74121

Determinación de (teofilina ) con fase móvil: metanol, acetato amónico, acetonitrilo 5:25:70 y  $\lambda = 294 \text{ nm}$

FIG(39)

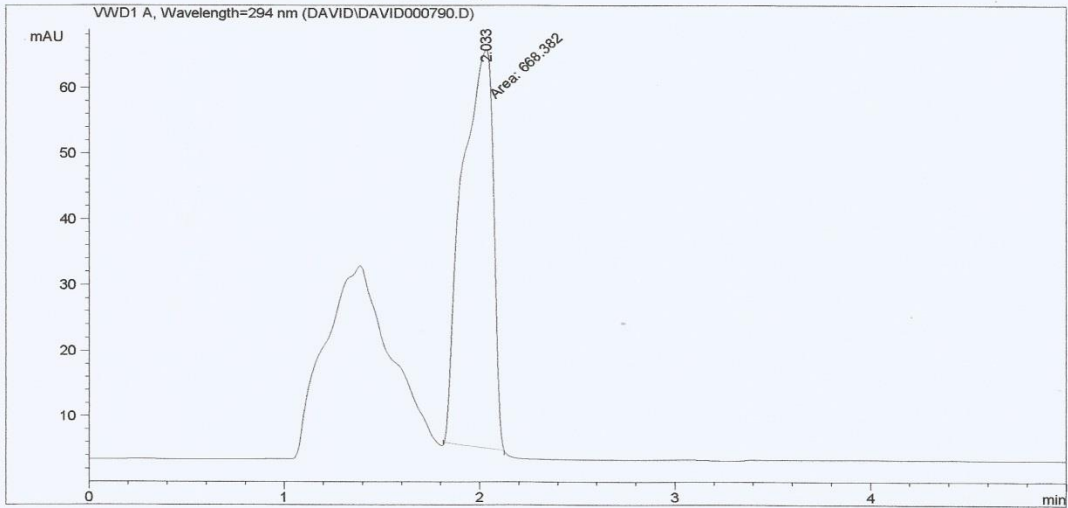


Determinación de (teofilina ) con fase móvil:metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(40)

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DAVID\DAVID000790.D  
Sample Name: paract(5,25,70) > 294nm

=====  
Acq. Operator : david  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 10/4/2016 7:05:24 PM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\2C-B.M  
Last changed : 10/4/2016 6:58:06 PM by david  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\SUANY.M  
Last changed : 1/26/2017 11:28:45 AM by suany  
(modified after loading)  
=====



=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

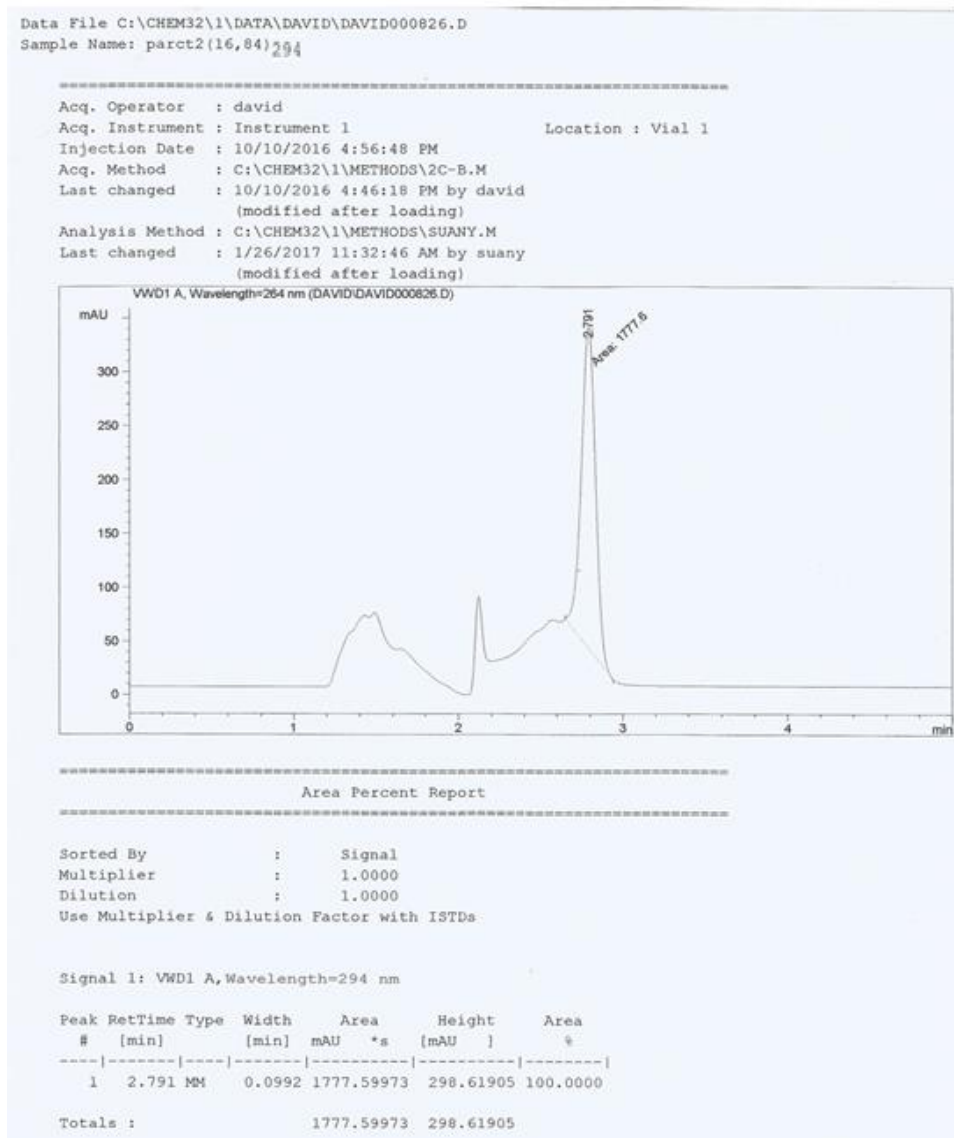
Signal 1: VWD1 A, Wavelength=294 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area [mAU*s]	Height [mAU]	Area %
1	2.033	MM	0.1835	668.38239	60.69671	100.0000

Totals : 668.38239 60.69671

Determinación de (paracetamol) con fase móvil: metanol, acetato amónico, acetonitrilo 5:25:70 y  $\lambda = 294 \text{ nm}$

FIG(41)

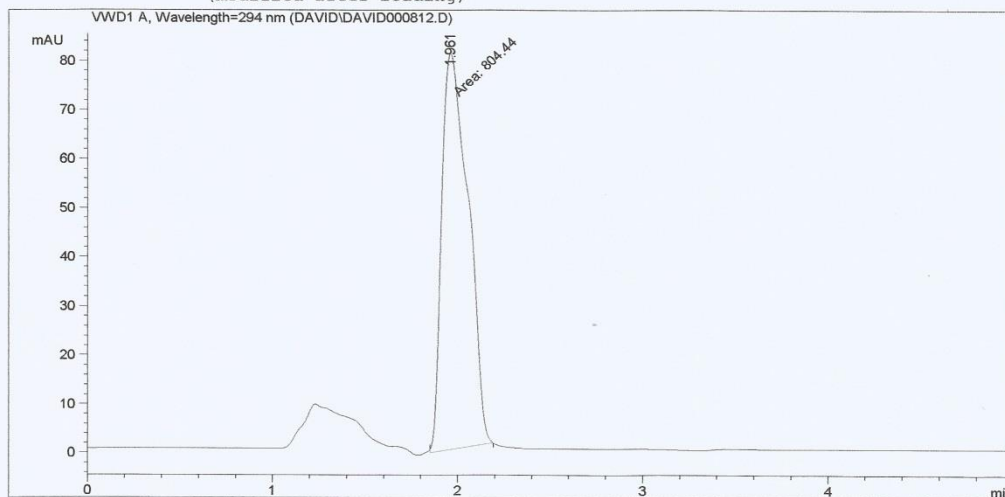


Determinación de (paracetamol ) con fase móvil:metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(42)

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DAVID\DAVID000812.D  
Sample Name: caf(5,25,70)294

=====  
Acq. Operator : david  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 10/6/2016 5:02:39 PM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\2C-B.M  
Last changed : 10/6/2016 5:00:21 PM by david  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\SUANY.M  
Last changed : 1/26/2017 11:28:45 AM by suany  
(modified after loading)



=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=294 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	1.961	MM	0.1657	804.44019	80.93510	100.0000

Totals : 804.44019 80.93510

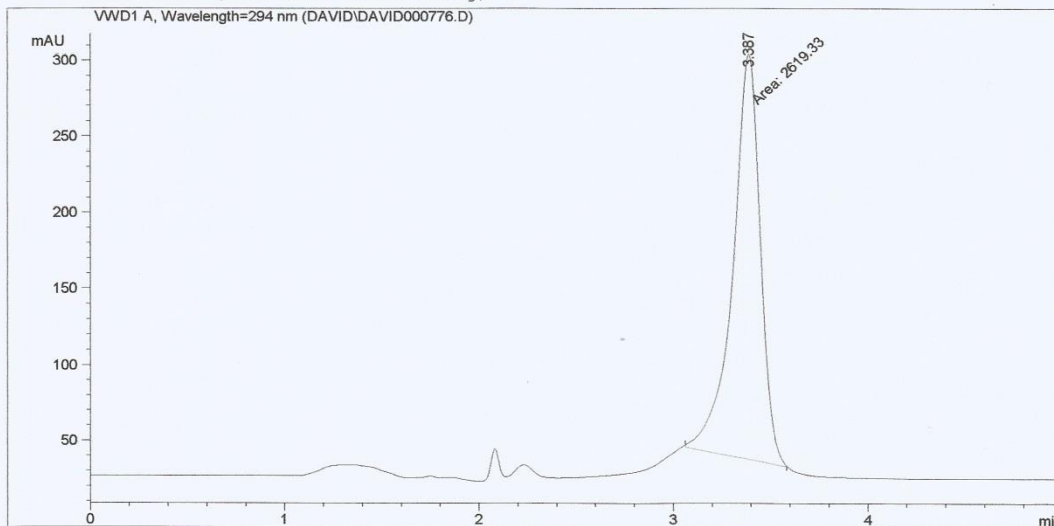
Determinación de (cafeína) con fase móvil: metanol, acetato amónico, acetonitrilo 5:25:70 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(43)

Data File C:\CHEM32\1\DATA\DAVID\DAVID000776.D

Sample Name: cafl' C<sup>0</sup> (16,84) → 294nm

=====  
Acq. Operator : david  
Acq. Instrument : Instrument 1 Location : Vial 1  
Injection Date : 10/3/2016 6:49:34 PM  
Acq. Method : C:\CHEM32\1\METHODS\2C-B.M  
Last changed : 10/3/2016 6:49:38 PM by david  
(modified after loading)  
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\SUANY.M  
Last changed : 1/26/2017 11:25:03 AM by suany  
(modified after loading)  
=====



=====  
Area Percent Report  
=====

Sorted By : Signal  
Multiplier : 1.0000  
Dilution : 1.0000  
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: WWD1 A, Wavelength=294 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	3.387	MM	0.1637	2619.32593	266.65329	100.0000

Totals : 2619.32593 266.65329

=====  
Instrument 1 1/26/2017 11:25:12 AM suany

Page 1 of 1

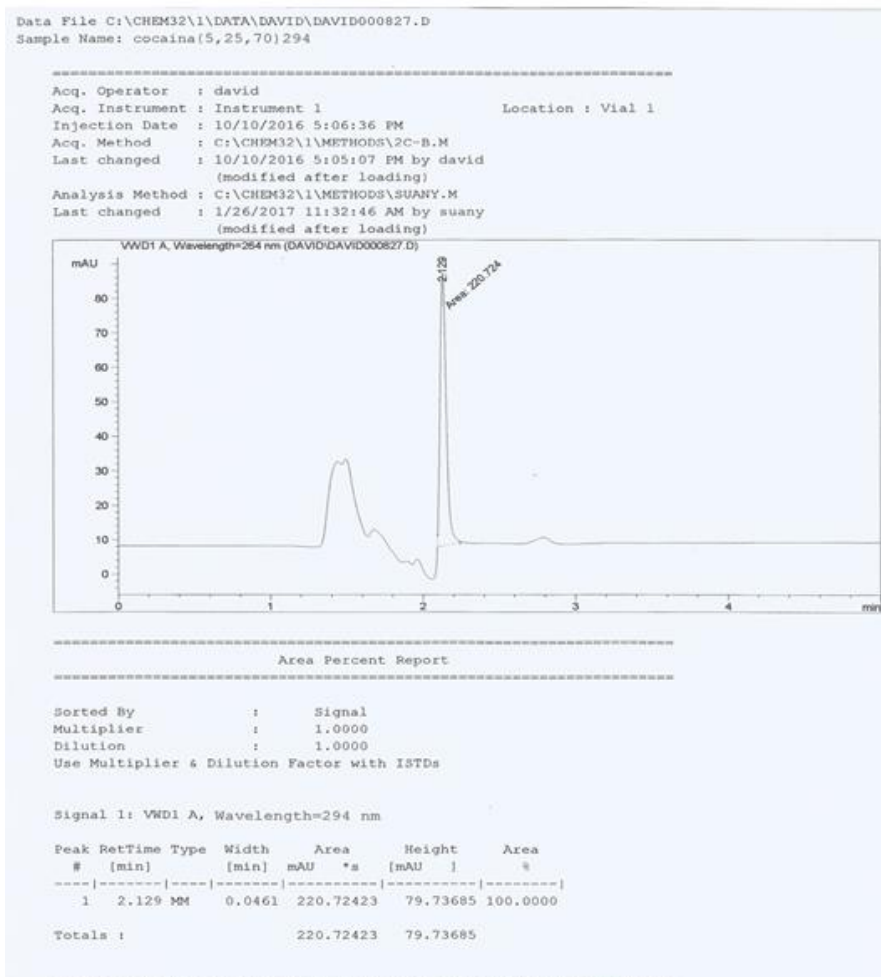
Determinación de (caféina) con fase móvil: metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm





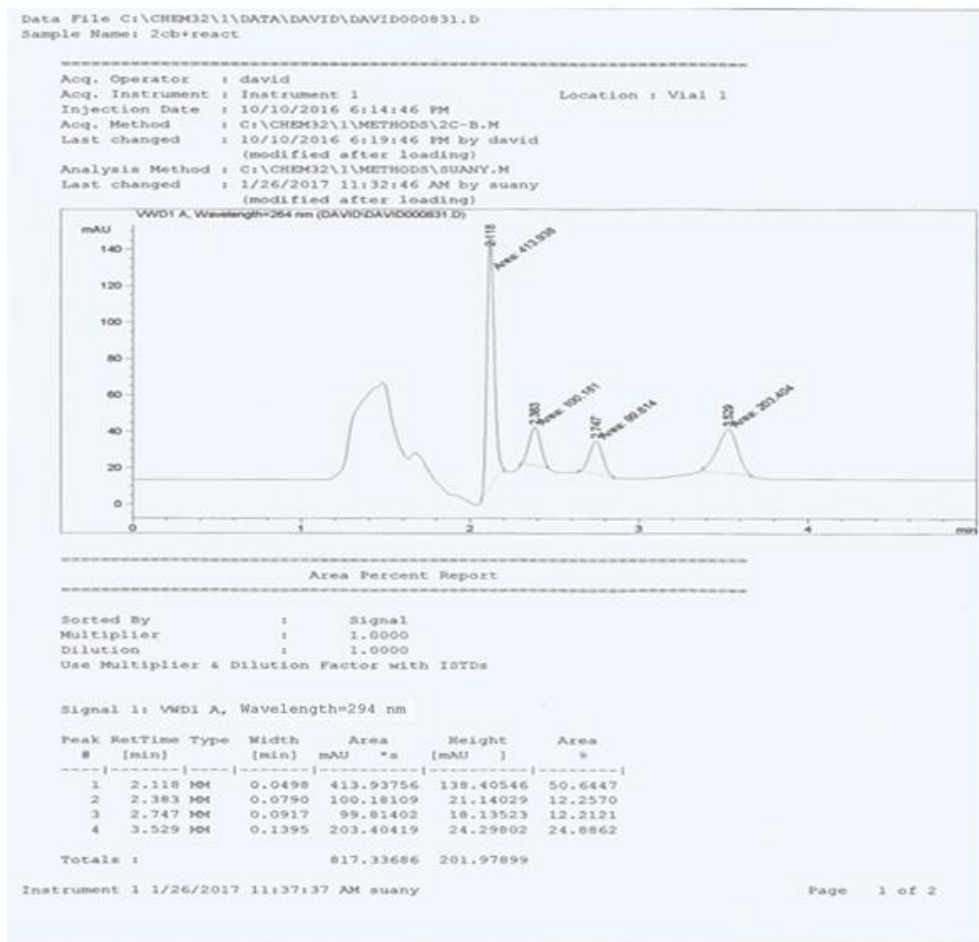


FIG (45)



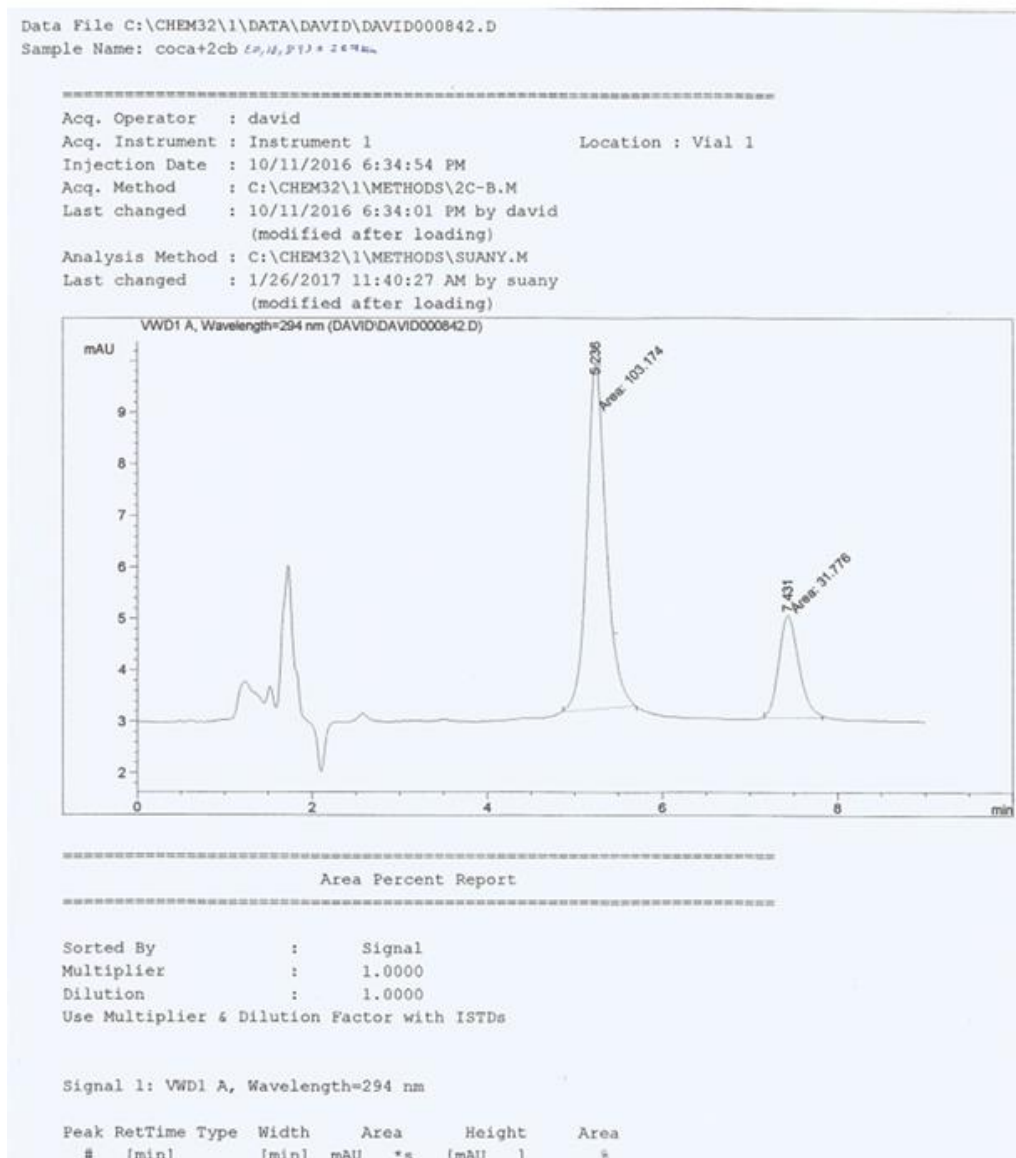
Determinación de (cocaína) con fase móvil: metanol, acetato amónico, acetonitrilo 5:25:70 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(46)



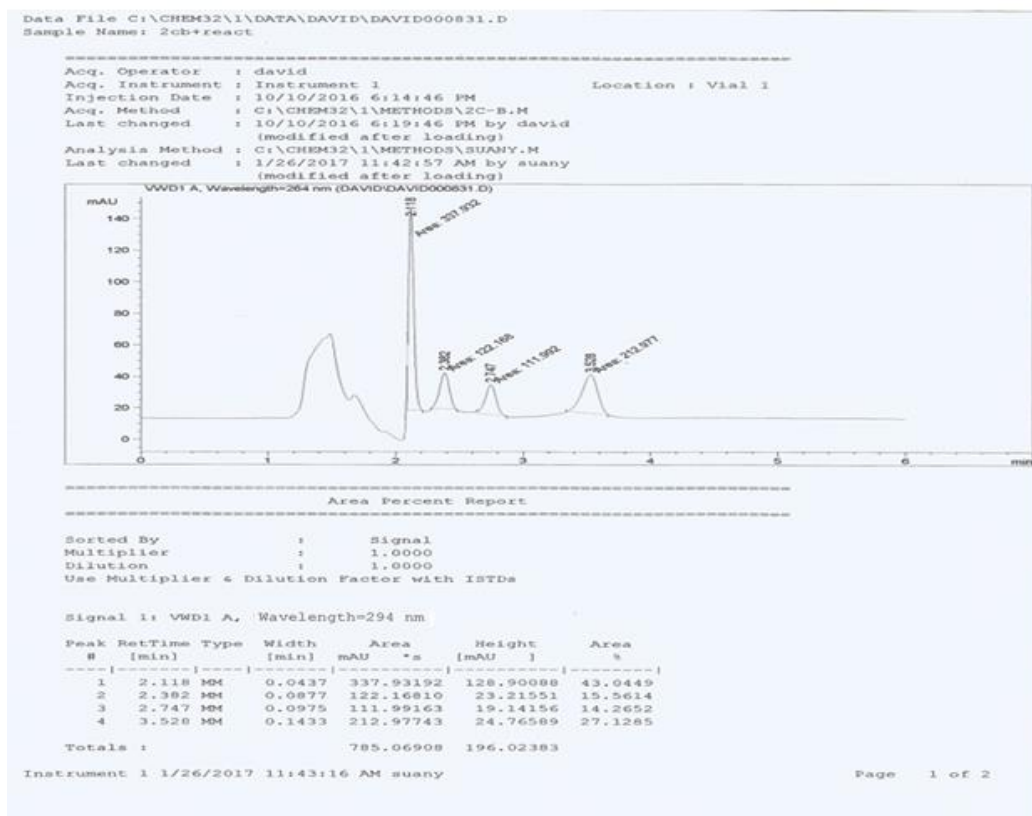
Determinación de (adulterantes estudiados ) con fase móvil:metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

FIG(47)



Determinación de (2C-B + cocaína) con fase móvil:metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294$  nm

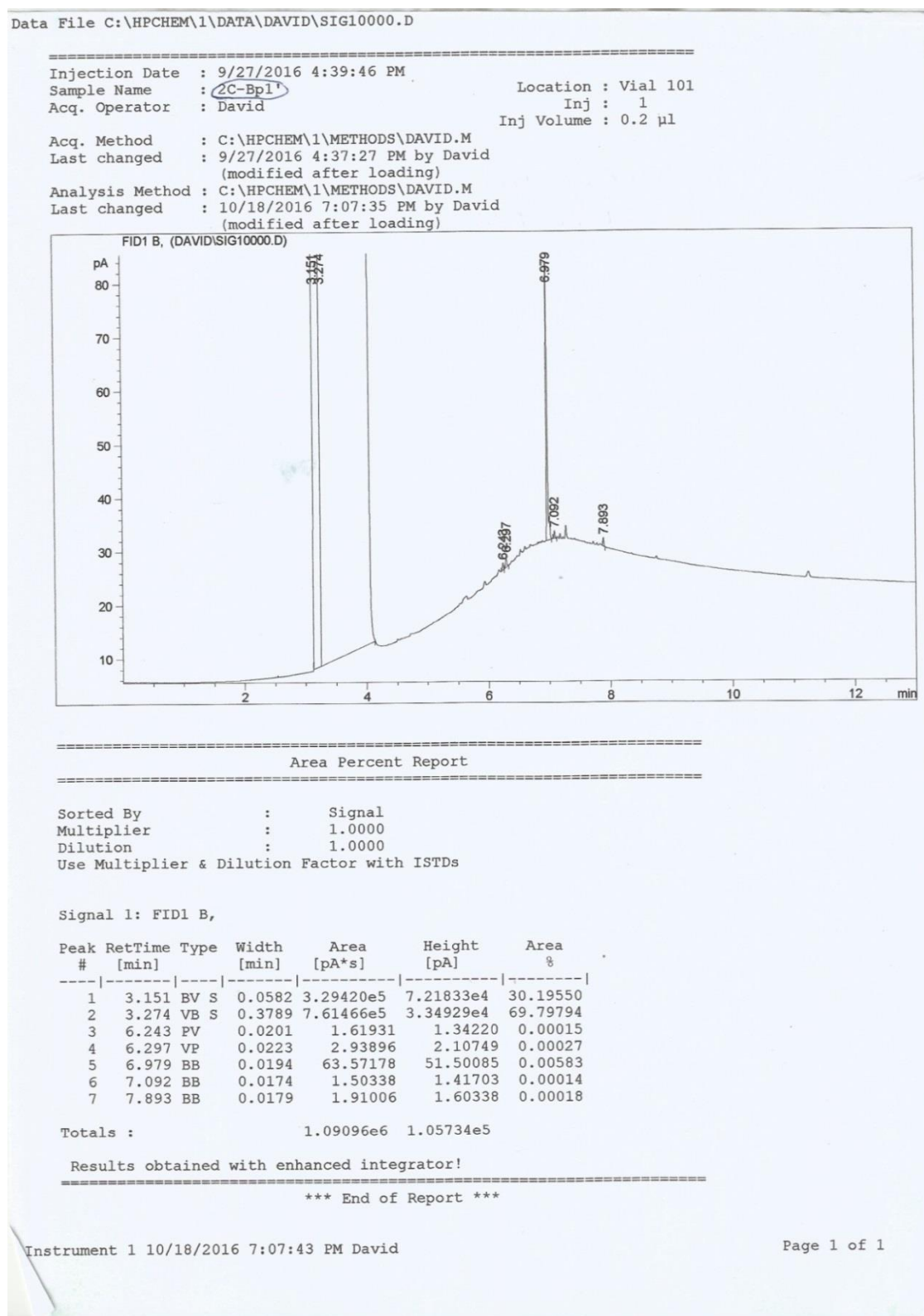
FIG(48)



Determinación de (adulterantes estudiados ) con fase móvil:metanol, acetato amónico: 16:84 y  $\lambda = 294 \text{ nm}$

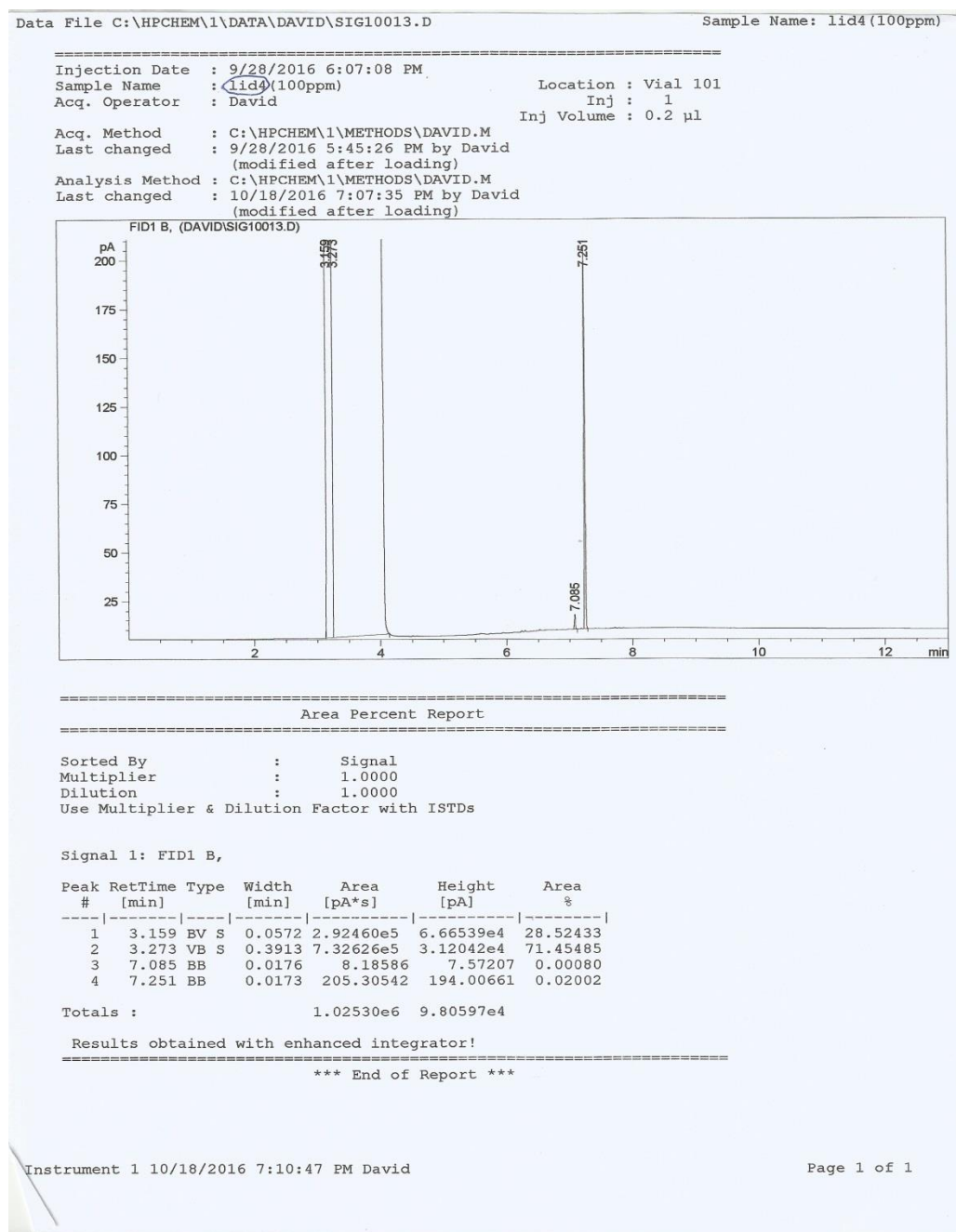
### 6.3. CROMATOGRAMAS CG/FID.

FIG(49)



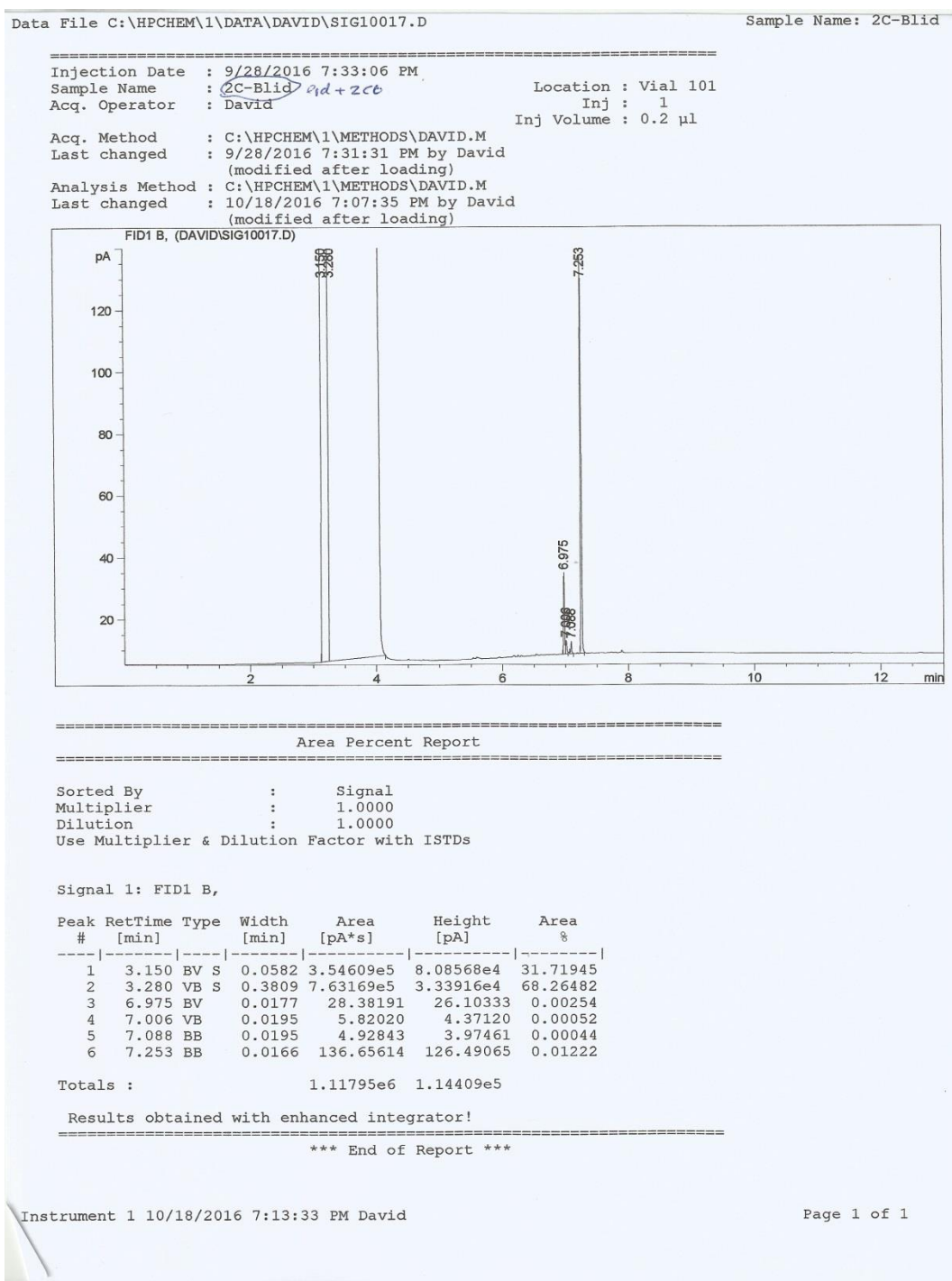
Determinación de (2C-B) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C

FIG(50)



Determinación de (lidocaína) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C

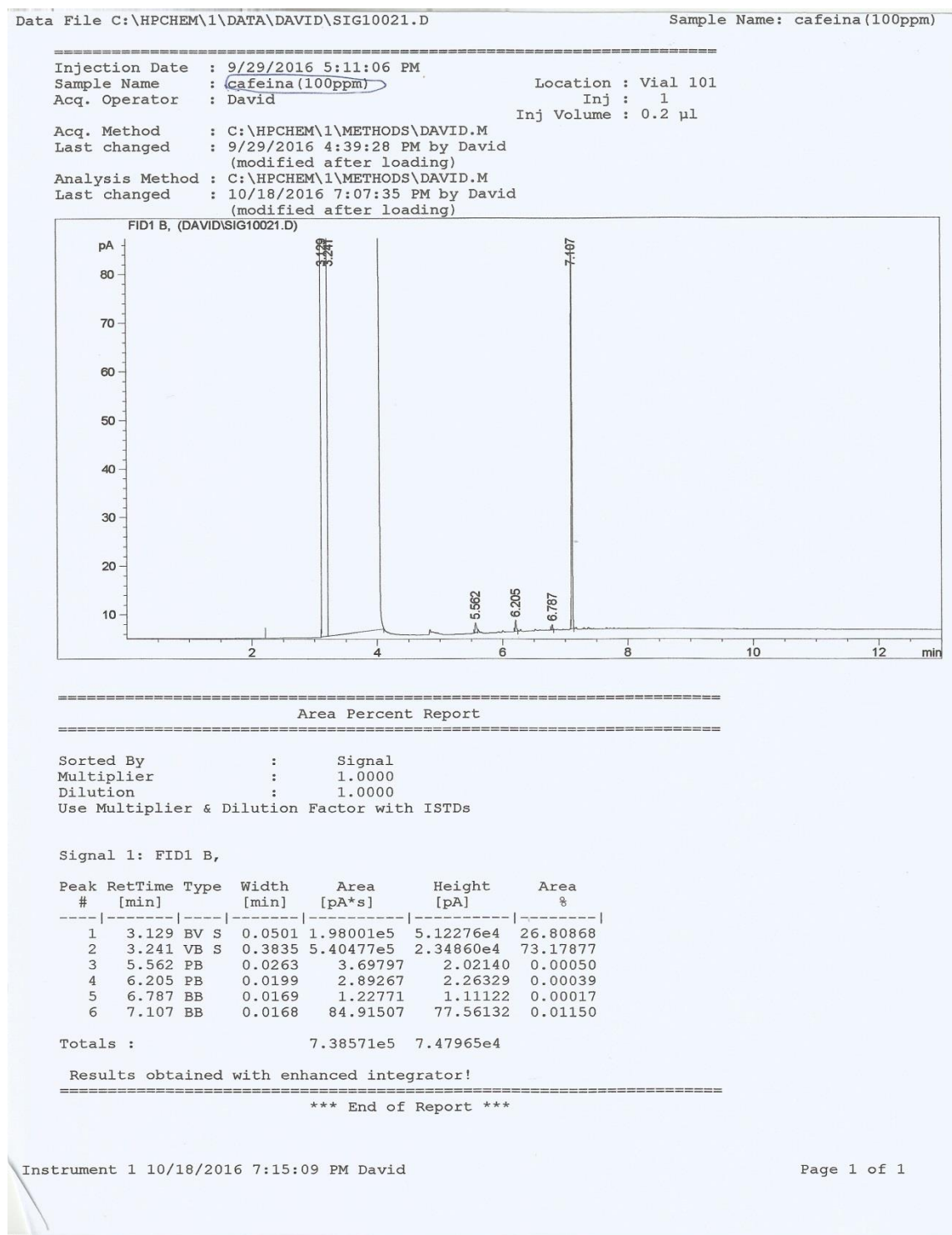
FIG(51)



Determinación de (2C-B + lidocaína) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C



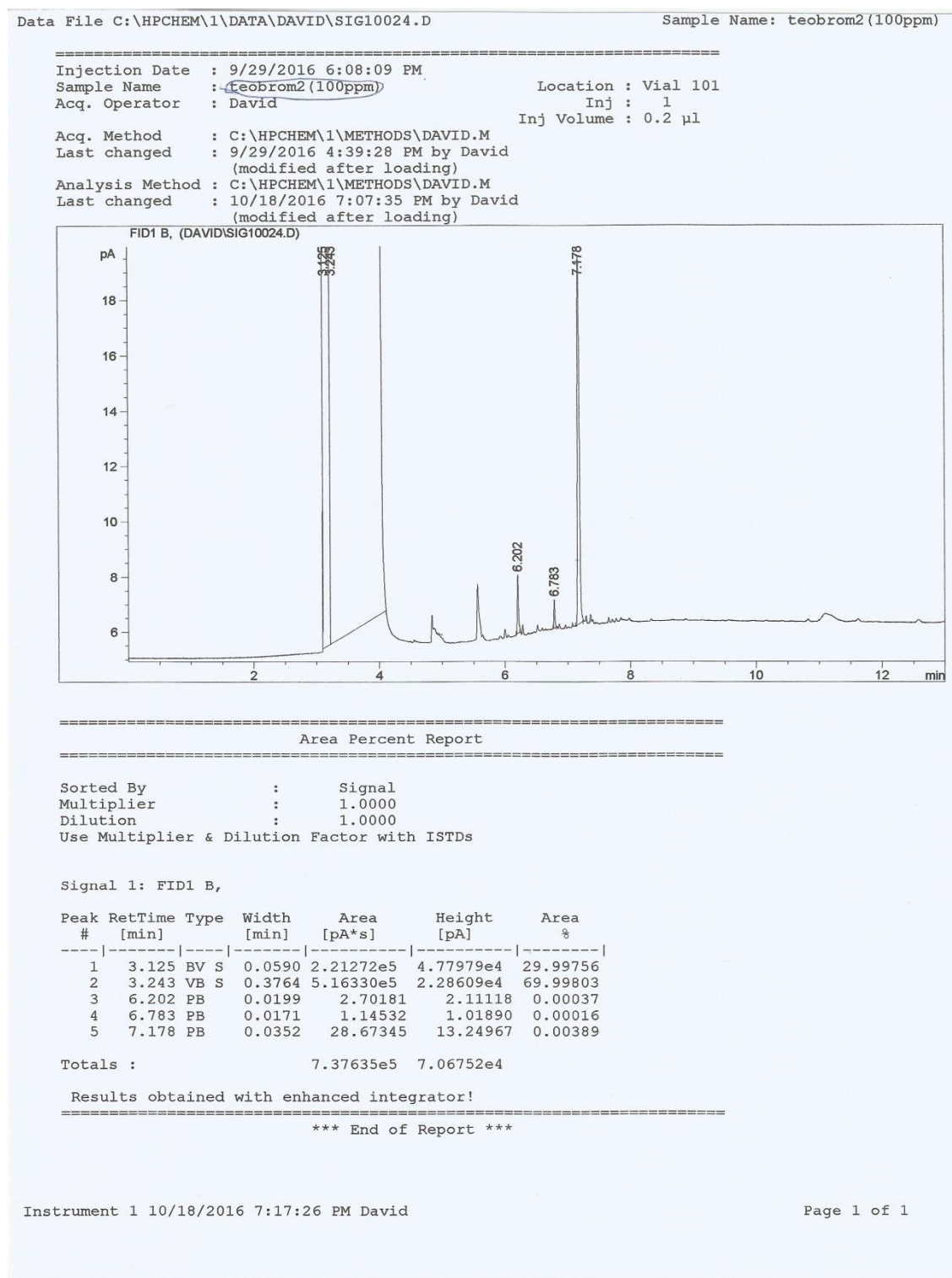
FIG(52)



Determinación de (caféina) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C

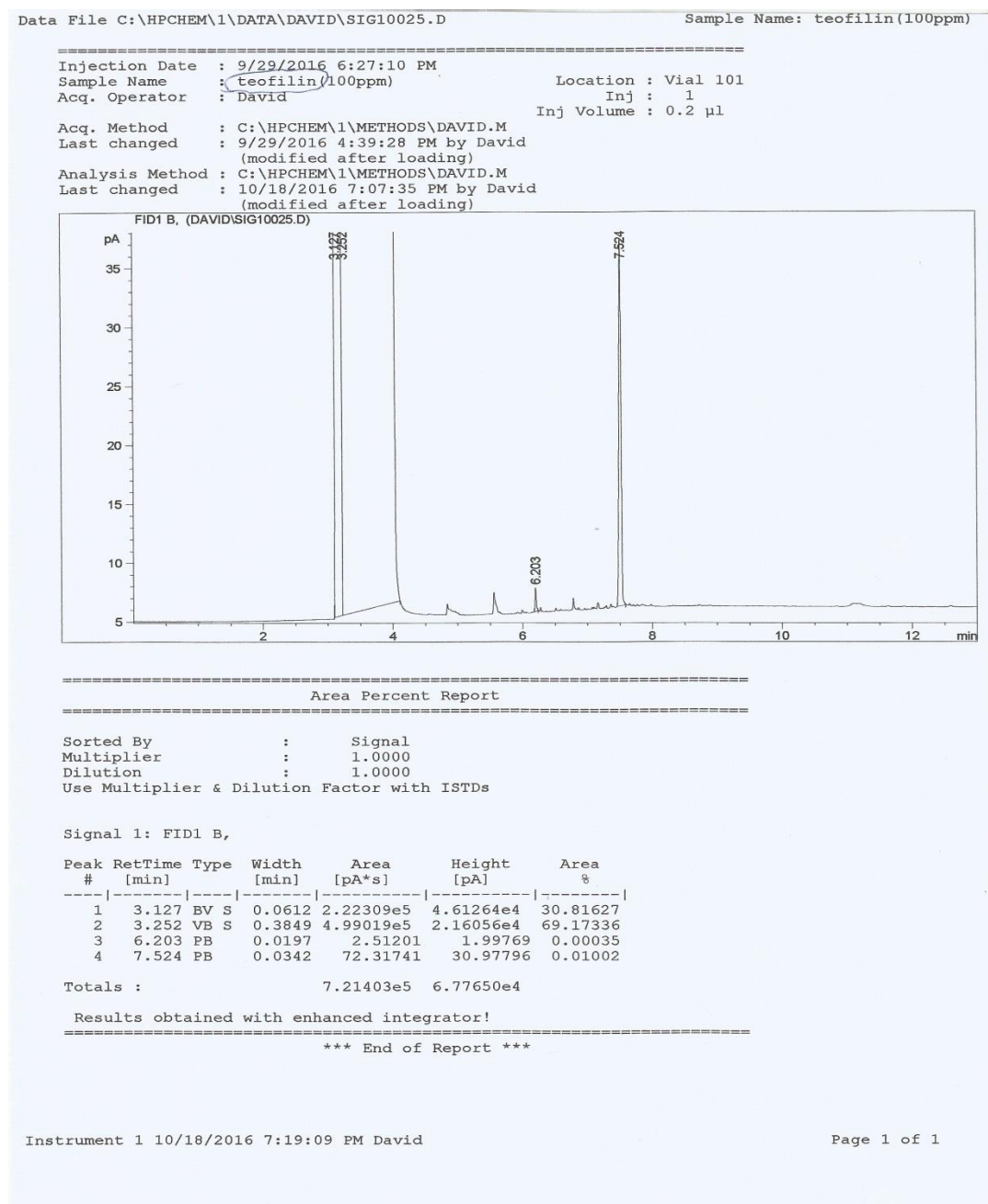


FIG(53)



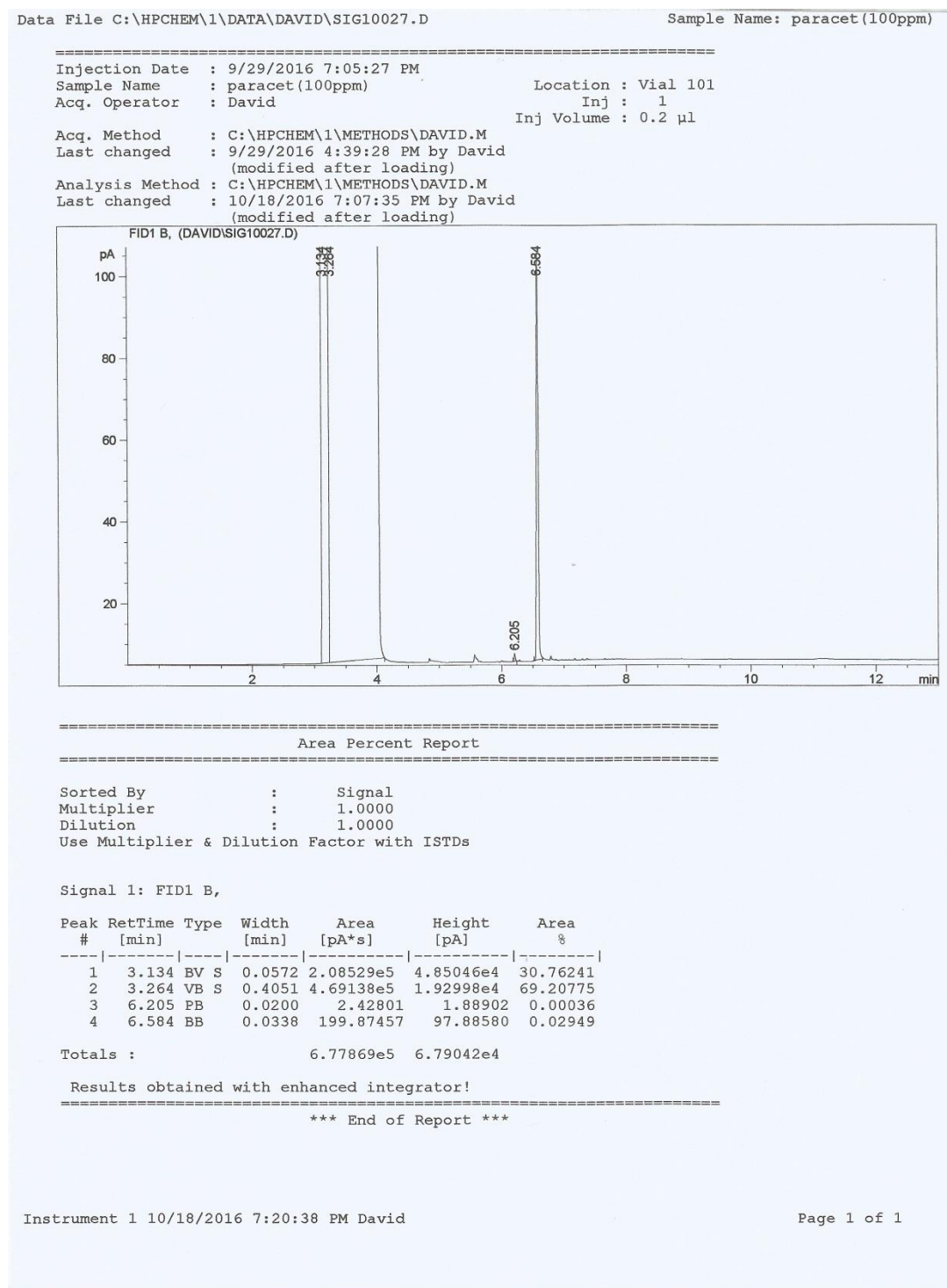
Determinación de (teobromina ) con TºPI=265ºC, TºH=220ºC y TºD=275ºC

FIG(54)



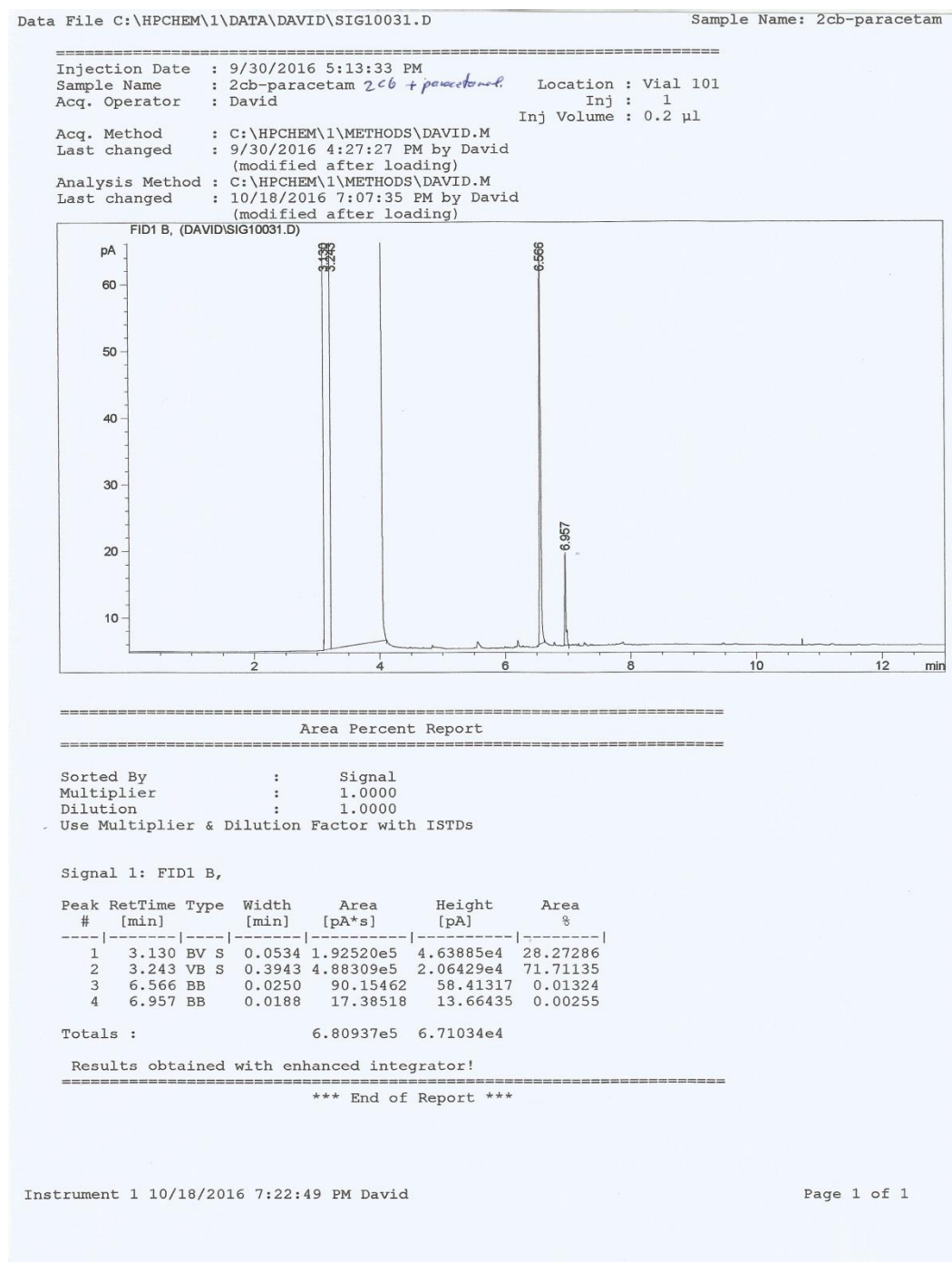
Determinación de (teofilina ) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C

FIG(55)



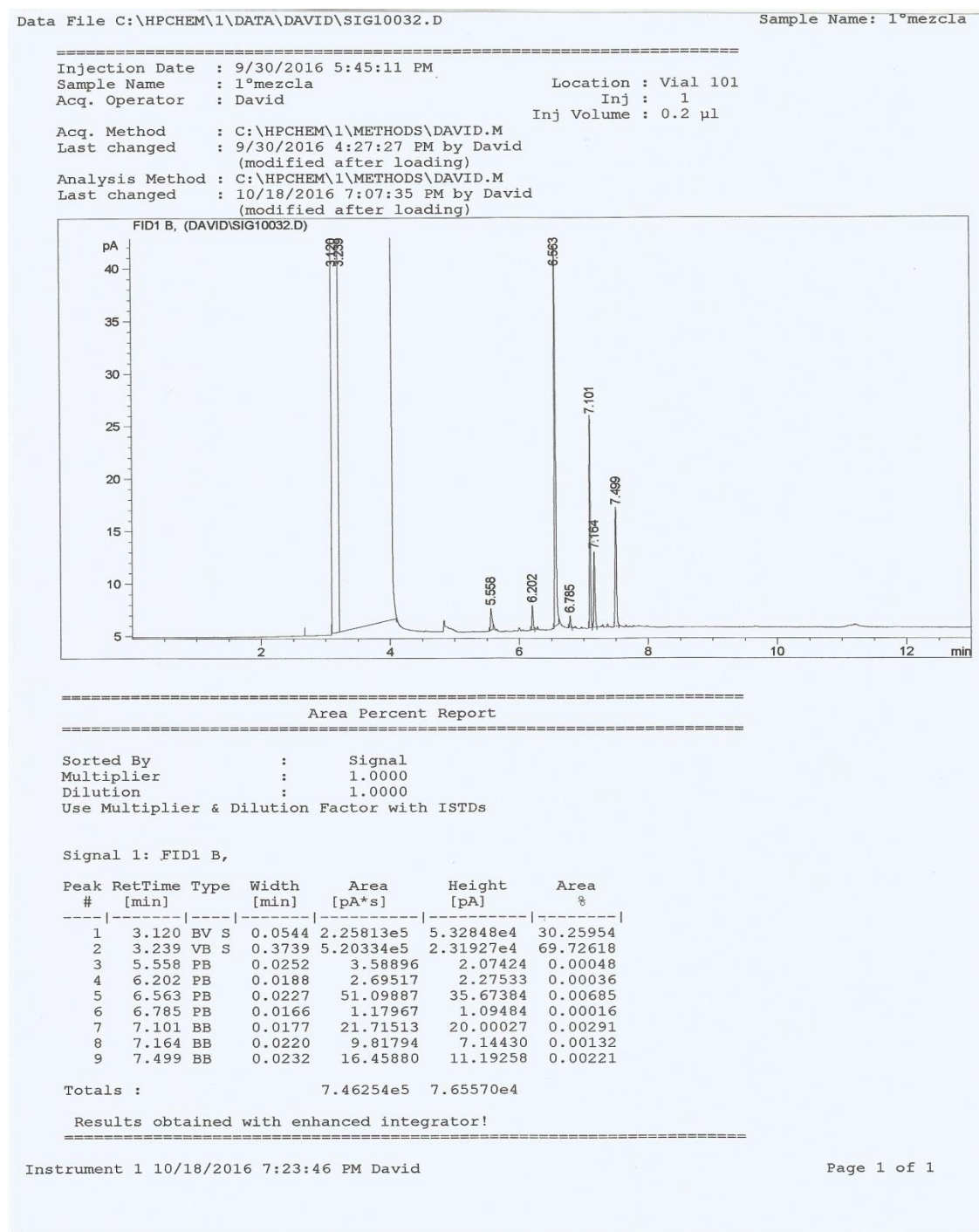
Determinación de (paracetamol ) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C

FIG(56)



Determinación de (2C-B + paracetamol ) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C

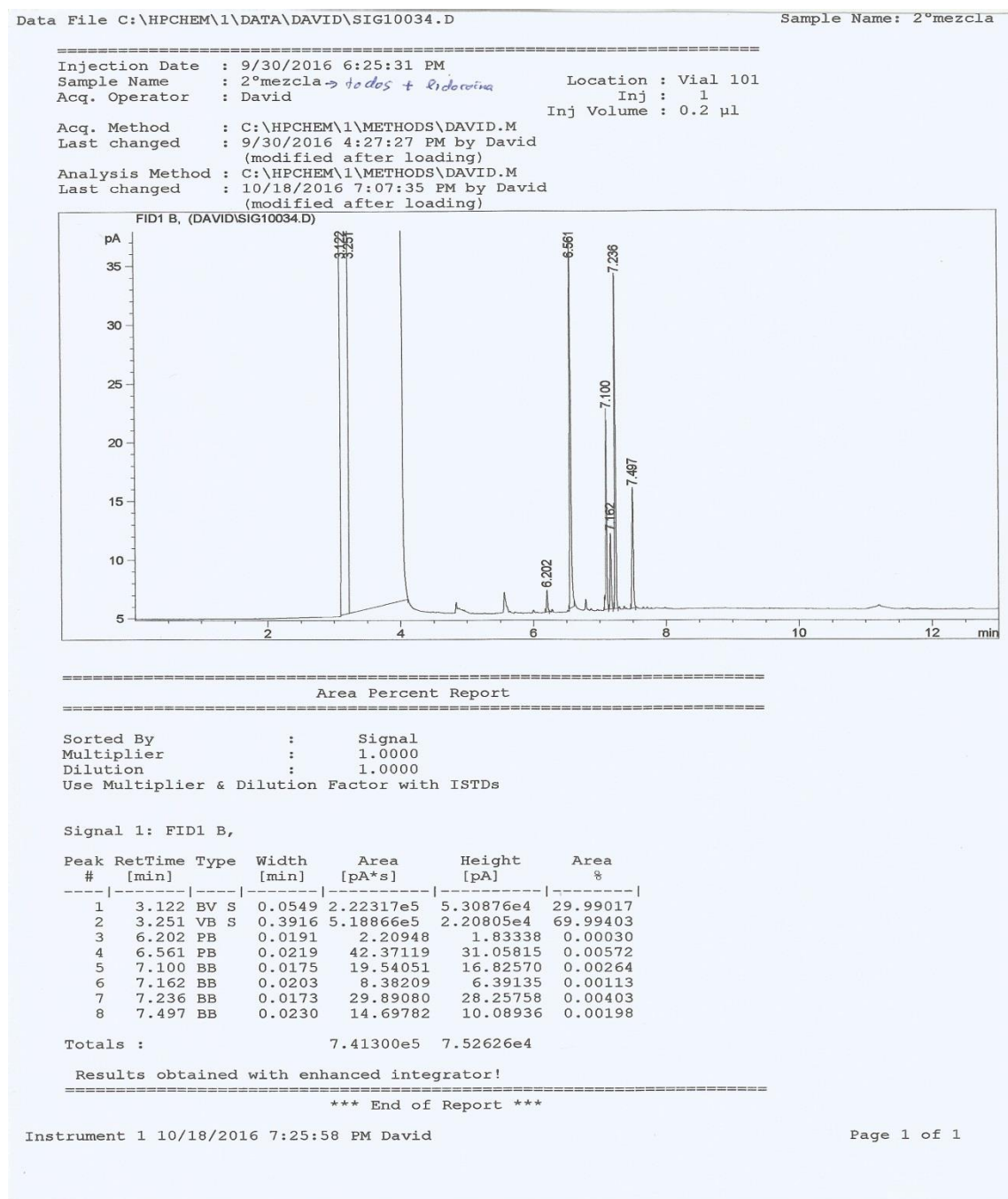
FIG(57)



Determinación de (2C-B + adulterantes estudiados) con TºPI=265ºC, TºH=220ºC y TºD=275ºC

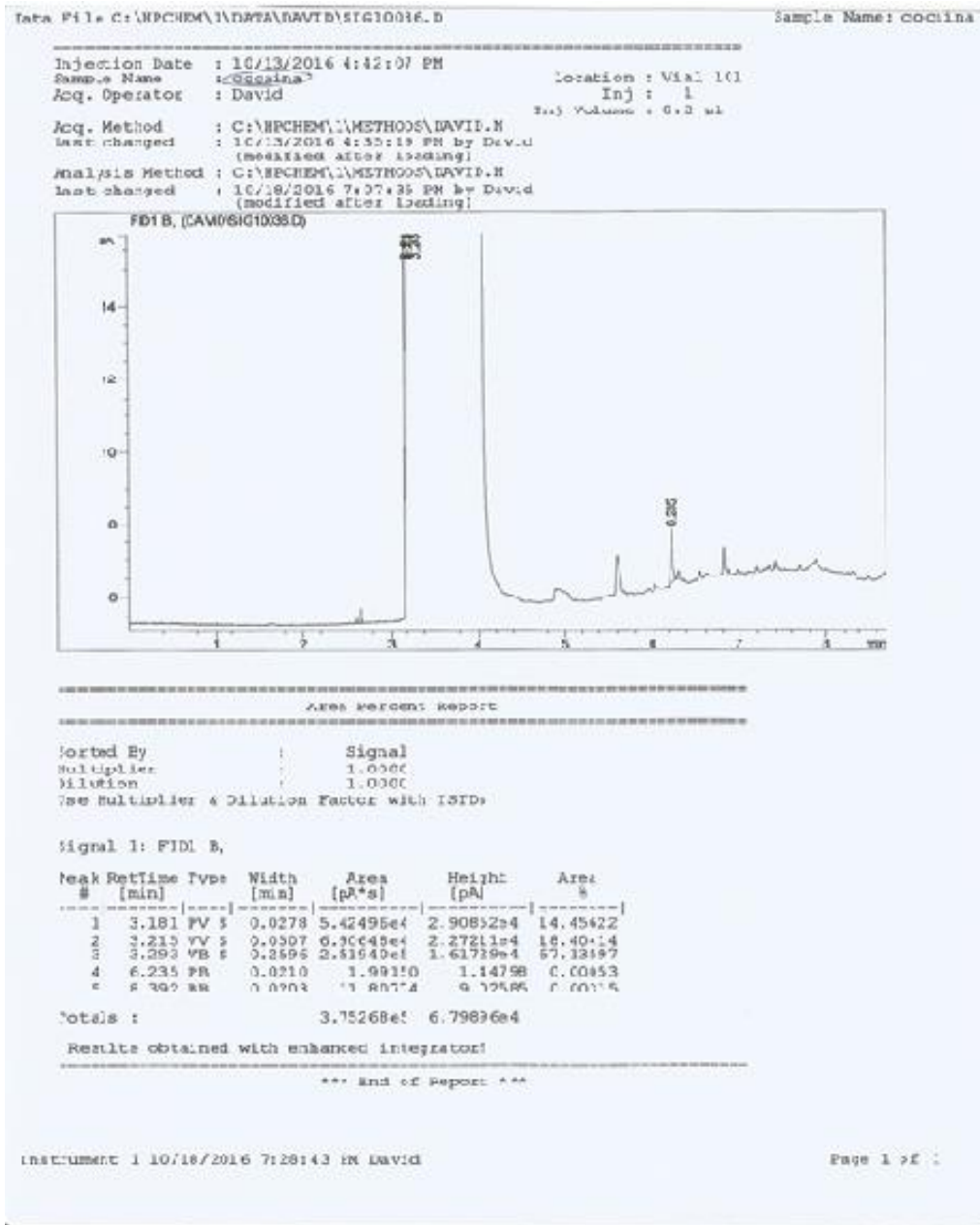


FIG(58)



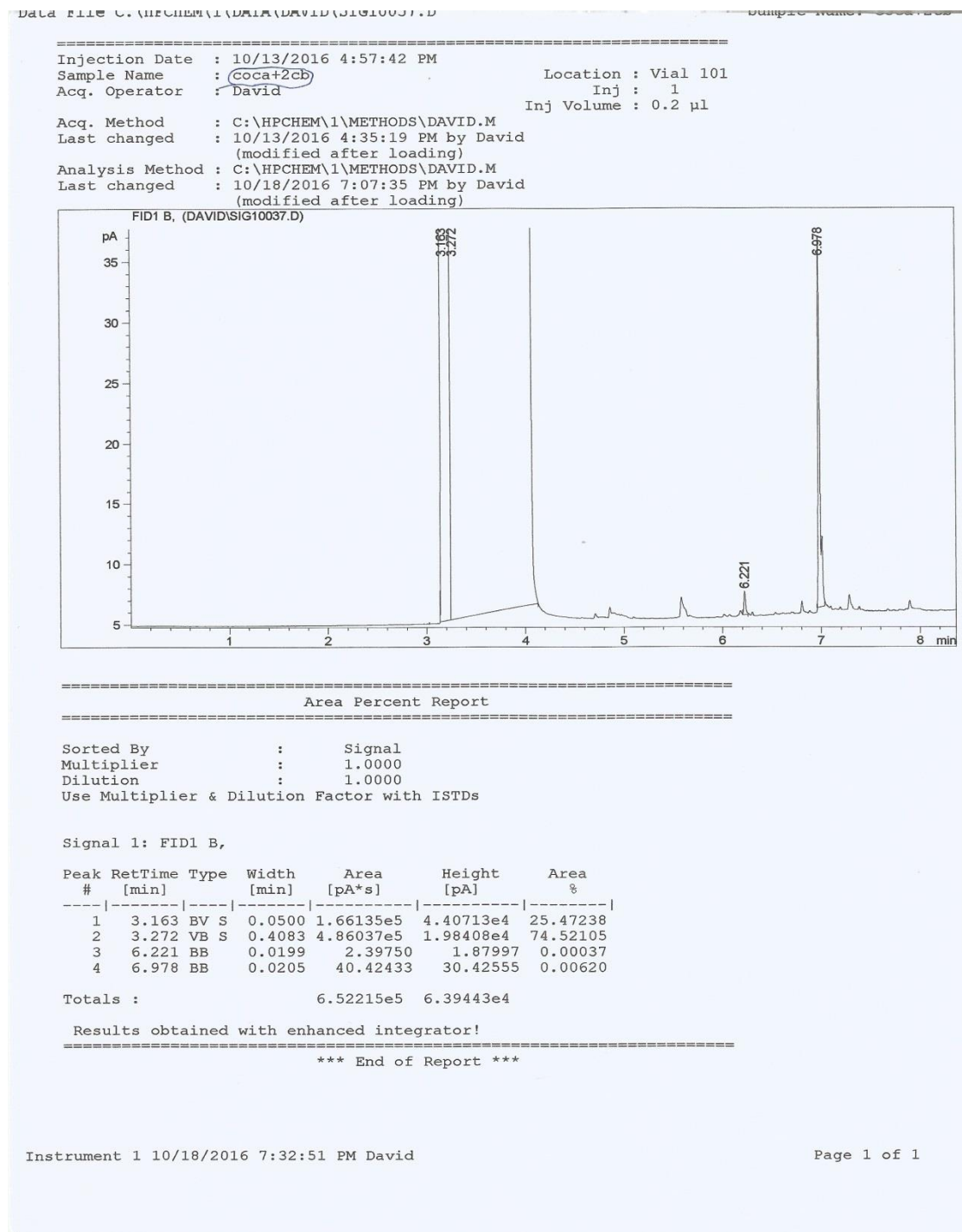
Determinación de (adulterantes estudiados) con TºPI=265ºC, TºH=220ºC y TºD=275ºC

FIG(59): Cocaína



Determinación de (cocaína) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C

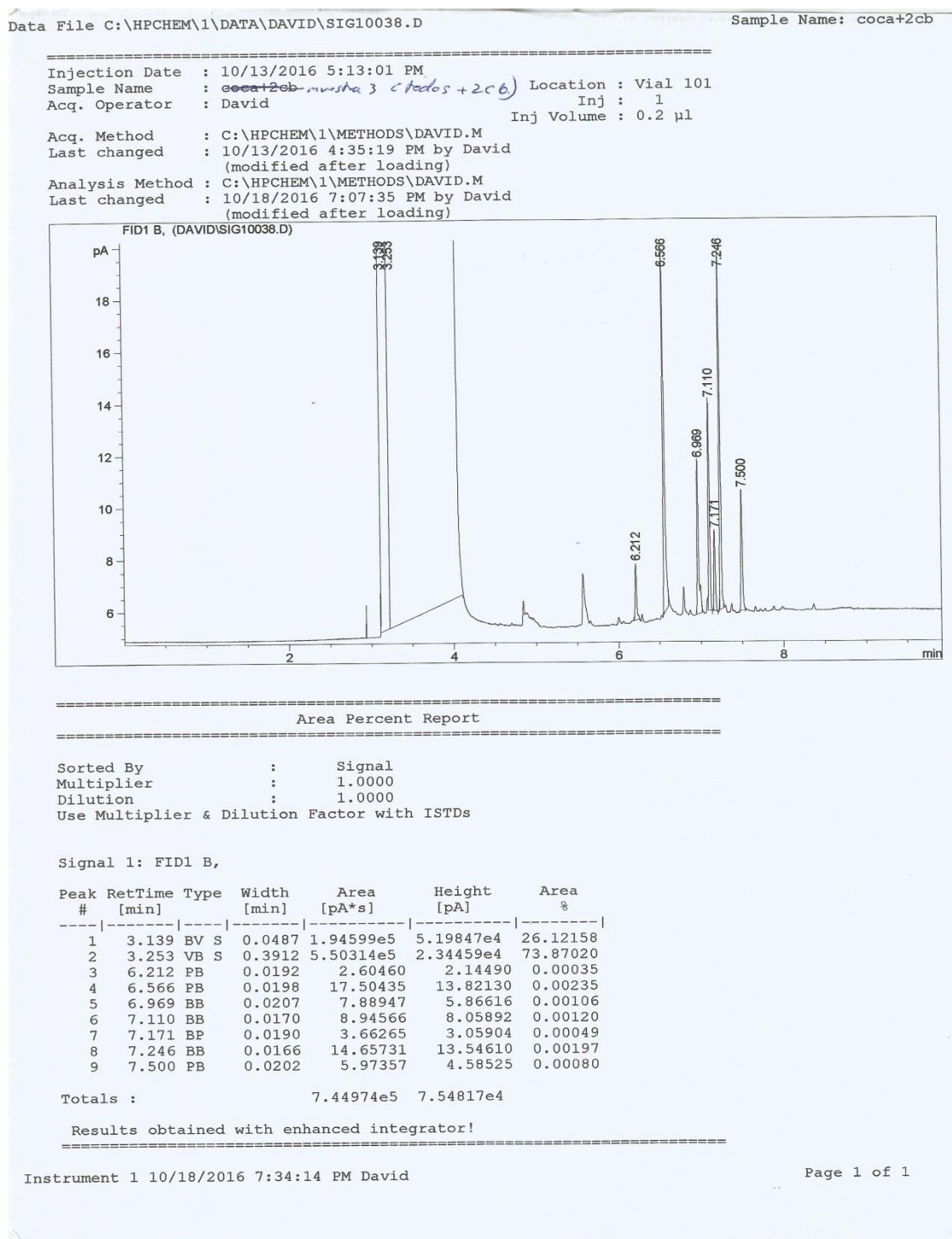
FIG(60)



Determinación de (2C-B + cocaína) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C



FIG(61)



Determinación de (2C-B + reactivos ) con T°PI=265°C, T°H=220°C y T°D=275°C