



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

NOMBRE:

ROSA MARÍA MORGADO MONTALVO

Nº DE CUENTA:

098549966

TÍTULO DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIÓLOGO:

*IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA COMPARANDO MUESTRAS DE
ORINA Y MECONIO*

ASESOR DE TESIS

Dr. Francisco Oscar Guadarrama Morales

MÉXICO D.F. FEBRERO DEL 2007



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:

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEORICO	
-Cocaína	3
-Composición química	5
-Propiedades físico-químicas	6
Estructura química	8
Propiedades físicas	8
-Rutas de exposición	9
-Mecanismo de acción	10
-Farmacocinética	
Absorción por vías de exposición	11
Distribución por vías de exposición	12
Metabolismo	13
Eliminación	14
-Efectos farmacológicos	15
-Meconio	16
-Orina	17
-Recolección de la muestra	18
-Métodos de extracción	19
-Métodos de identificación	20
Inmunoensayos	21
Cromatografía de gases	25
Espectrometría de masas	30
Cromatografía de gases-espectrometría de masas	32
ANALISIS DE RESULTADOS	35
CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	36

Planteamiento del problema:

El consumo de cocaína está experimentando un notable aumento, y resulta alarmante la proporción de usuarias de fármacos entre las mujeres en edad fértil y las embarazadas. Ya que la mayoría de los fármacos cruzan con facilidad la placenta hacia la circulación fetal conducen a un número de complicaciones en el feto o el recién nacido, incluyendo una alta incidencia de mortinatos y secuelas a largo plazo en los recién nacidos, por lo que es importante la detección precoz del consumo de sustancias en mujeres embarazadas, buscando un método que sea eficaz, rápido y confiable y reduzca el número de datos falsos negativos.

Objetivos:

- ✳ Plantear la problemática y repercusión en el producto por el consumo de cocaína en mujeres embarazadas.
- ✳ Conocer todos los aspectos físicos y químicos acerca de la cocaína
- ✳ Conocer la farmacología y farmacocinética de la cocaína
- ✳ Analizar técnicas de obtención de muestras
- ✳ analizar técnicas de análisis para su identificación.

Metodología:

La metodología a emplear consiste en:

- hacer una revisión bibliográfica a grandes rasgos primero consultando libros para obtener generalidades acerca del consumo de drogas y específicamente de la cocaína que es de la cual trata esta tesina. Se consultaran libros de Farmacología, drogadicción, medicina interna, pediatría.
- Hacer una revisión bibliográfica para obtener artículos de revistas que se relacionen directa e indirectamente con el tema de la cocaína.
- Visitar bibliotecas de interés químico-biológicas como son las ubicadas en la FES-Zaragoza, Facultad de Química, Facultad de Medicina, Hospital de Traumatología de Balbuena, Centro Médico Siglo XXI.
- De la información obtenida seleccionar lo más importante para elaborar la tesina.
- Hacer una selección de imágenes.
- Tener revisiones periódicas con el asesor de tesina y recabar y comprender mejor de los temas tratados en el diplomado y que estén ligados con este trabajo.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

JUNIO	Investigar de modo general abarcando los puntos requeridos del tema. Realizar resumen e introducción del anteproyecto.
JULIO	Buscar referencias de artículos en la red. Acudir a la biblioteca del Centro Medico S. XXI Fotocopiar artículos
AGOSTO	Leer y traducir artículos encontrados. Resumir los artículos encontrados. Realizar anteproyecto Primera revisión con asesor de tesina
SEPTIEMBRE	Correcciones marcadas por el asesor de tesina. Entrega del anteproyecto al titular del Diplomado
OCTUBRE	Investigar acerca de meconio y orina en la Biblioteca de la Facultad de Química de la UNAM Seleccionar información trascendente y complementar tesina. Investigar métodos de análisis Acudir a la biblioteca de FES-Zaragoza. Acudir al INACIPE Acudir a la Biblioteca del Hospital General de Traumatología
NOVIEMBRE	Leer y resumir toda la información recopilada. Complementar tesina Segunda revisión con asesor de tesina
DICIEMBRE	Correcciones marcadas por el asesor de tesina.
ENERO	Acudir a la biblioteca de la Facultad de Química de la UNAM Acudir a la biblioteca de la FES-Zaragoza Acudir a la biblioteca de INP Resumir información y complementar tesina. Tercera revisión con asesor de tesina.
FEBRERO	Correcciones marcadas por el asesor Entrega de tesina Preparación de la exposición de la tesina Exposición de la tesina

TITULO: IDENTIFICACIÓN DE COCAÍNA Y COMPARACIÓN EN MUESTRAS DE ORINA Y MECONIO

RESUMEN:

La cocaína existe en las hojas de *Erithroxylum coca* y otras especies de *Erithroxylum*, árboles originarios del Perú y Bolivia. La cocaína estimula en general es sistema nervioso central (SNC). En el ser humano se manifiesta inicialmente como una sensación de bienestar y euforia a veces con disforia. En la actualidad el consumo de cocaína está experimentando un notable aumento en México y en muchos países esto hace prever un aumento de la incidencia de los posibles efectos adversos. Desafortunadamente se da el consumo de cocaína en gestantes lo que conlleva a saber los efectos de la droga sobre el feto y el recién nacido.

Los fármacos ingeridos por la mujer embarazada, cruzan con facilidad la placenta hacia la circulación total. Esto puede conducir a un número de complicaciones en el feto o el recién nacido. El éxito de un tratamiento de hijos de madres farmacodependientes requiere su identificación prontamente después del nacimiento. El meconio, las primeras heces del bebe, ayuda a detectar el consumo de drogas de la madre durante el embarazo. También se ha utilizado la orina para estos fines. Pueden utilizarse diversas técnicas para detectar la presencia de metabolitos de drogas en orina y meconio. Pruebas presuntivas y confirmatorias.^{1,2,3.}

INTRODUCCIÓN:

El problema de abuso de fármacos ha alcanzado proporciones epidémicas durante las 3 últimas décadas. En un estudio, la estimación del uso de fármacos entre las mujeres embarazadas varió desde el 0.4 hasta el 27%, según si el consumo de fármacos se detecta mediante historia materna, por toxicología urinaria o con ambos métodos. Pero cuando se utilizó el análisis de fármacos en meconio, que representa el método más posible para detectar estas sustancias, se halló una tasa de prevalencia del 44% de uso de drogas ilícitas dentro de la población del estudio, en contraste con el 11% según la autocomunicación materna.

La mayoría de los fármacos ingeridos por la mujer, cruzan con facilidad la placenta hacia la circulación fetal. La placenta supone una barrera muy poco eficaz contra el paso de fármacos o su biotransformación en la misma placenta. Así pues el feto sufre una exposición crónica a los fármacos usados por la mujer embarazada a lo largo de la gestación. Esto puede conducir a un número de complicaciones en el feto o el recién nacido, incluyendo una alta incidencia de mortinatos, líquido amniótico teñido de meconio, rotura prematura de las membranas, hemorragia materna (desprendimiento placentario) y sufrimiento fetal.

La mortalidad y la morbilidad son altas en el recién nacido -p. ej. existe una alta incidencia de asfixia, prematuridad, bajo peso al nacer, infecciones, neumonía, malformaciones congénitas, infarto cerebral, síndrome de abstinencia de fármacos y riesgo aumentado de síndrome de inmunodeficiencia adquirida. (SIDA).

También se han encontrado secuelas a largo plazo en los recién nacidos, entre las que incluyen ciertos retrasos del crecimiento físico y el desarrollo mental, el síndrome de muerte súbita infantil e incapacidades del aprendizaje, síndrome de abstinencia neonatal.

Conforme aparece la tolerancia o la adicción a fármacos en las mujeres embarazadas también se desarrolla dependencia de los fármacos en el feto. La principal preocupación con relación a la exposición perinatal de sustancias tóxicas implica la potencia teratogénica. Los niños expuestos tienen una mayor probabilidad de sufrir toda una serie de trastornos de salud, del desarrollo y, precisan un ingreso hospitalario prolongado en la etapa neonatal por presentar un bajo peso y prematuridad. Muchos de estos niños precisan un soporte a largo plazo para su desarrollo y cuidados

rehabilitatorios para el tratamiento de secuelas cognitivas y conductuales.
1,2

MARCO TEORICO:

COCAÍNA

Se le extrae de un arbusto que crece en abundancia especialmente en Perú y Bolivia. La cocaína es un alcaloide encontrado en hojas de *Erythroxylum coca* arbusto de América del Sur. En épocas pre-Colombinas, la hoja de la coca fue reservada oficialmente para los incas. Utilizaron la coca para propósitos místicos, religiosos, sociales, alimenticios y medicinales. Explotaron su característica estimulante para guardar la fatiga y el hambre, realzar la resistencia y promover un sentido de bienestar.

Los conquistadores españoles que volvían introdujeron la coca a Europa. La planta de la coca es perecedera y es difícil su traslado. En 1814 empezaron a investigar el modo que la coca se pudiera utilizar como "substituto para el alimento de modo que la gente pudiera vivir un mes, sin comer...".

El ingrediente activo de la planta de la coca primero fue aislado en el oeste por el químico alemán Friedrich Gaedcke en 1885; el lo nombró "*Erythroxyline*", por el nombre genérico de la planta. Empleando alcohol, ácido sulfúrico, bicarbonato sódico y éter, otro químico alemán de nombre Albert Niemann purifica el alcaloide de Gaedcke y aísla directamente de las hojas de coca el alcaloide al que se conoce desde entonces con el nombre de "cocaína".

Los doctores dispensaron la cocaína como antídoto al apego de la morfina. La cocaína era ampliamente utilizada en tónicos, curaciones; en cigarrillos de coca para levantar la depresión. Cuando está combinado con alcohol, el alcaloide de la cocaína rinde otro compuesto potente, cocaethylene. Así la cocaína era un ingrediente popular en los vino, notablemente el vino de Vin Mariani que vendía una infusión de hojas de coca en vino. Oca de primeros ministros, e incluso del Papa.

La Coca-Cola fue introducida en 1886 como "un cerebro-tónico y valiosa curación para todas las afecciones nerviosas". La Coca-Cola fue promovida como bebida nueva y popular que vigorizaba. Hasta 1903, una porción típica contenía alrededor 60mg de la cocaína. Vendida hoy, todavía contiene un extracto de coca. Coca-Cola Company importa ocho toneladas de América del Sur cada año. ^{14,15}

Las hojas de coca tienen una forma oval, son de un color verde oscuro, llegan a medir hasta 6 cm de largo y contienen aproximadamente 1% de cocaína. (ver Figura 1.)

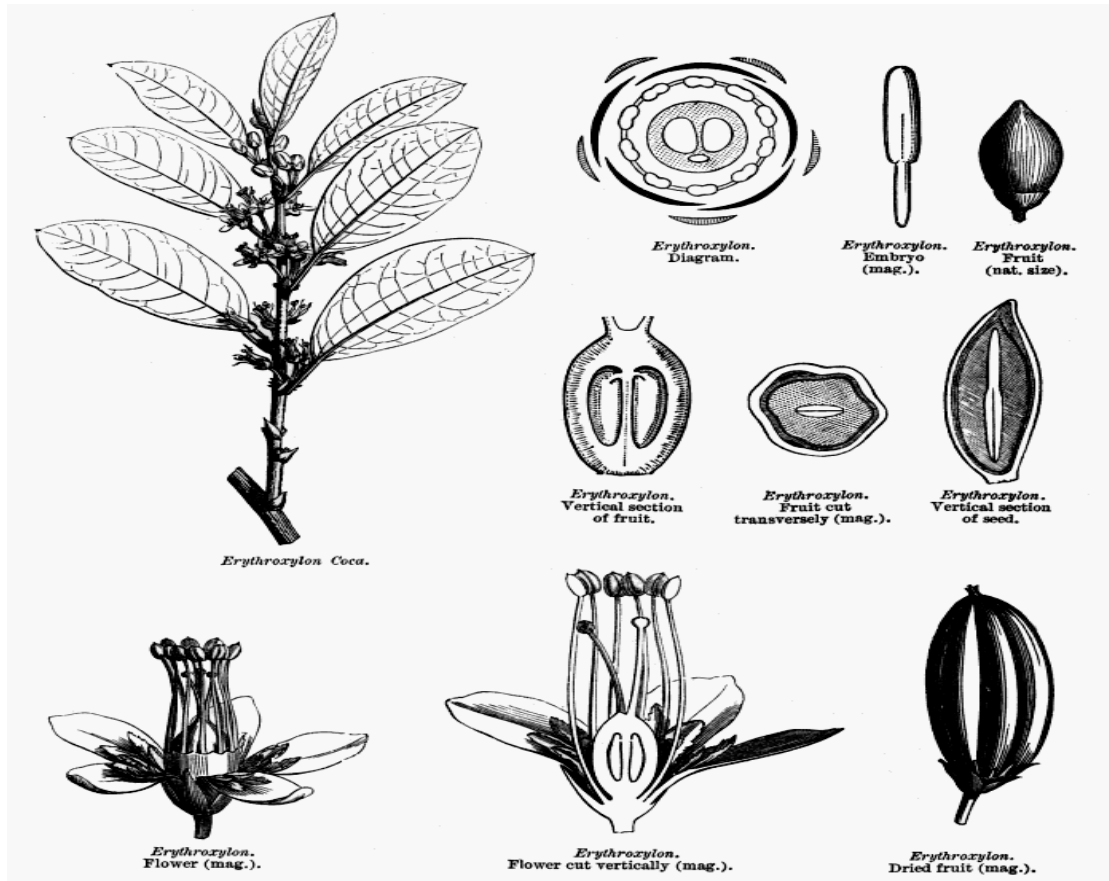


Figura 1. Especies de *Erythroxylum*

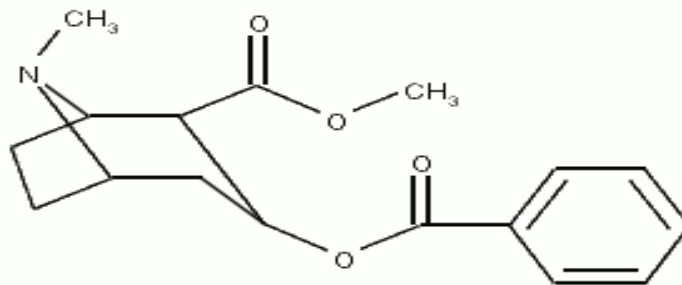
Dependiendo del tratamiento químico que reciba lo que se conoce como pasta base, la cocaína puede extraerse en forma de clorhidrato. En cualquiera de sus variedades, la cocaína se presenta en forma de polvo blanco, cristalino e inodoro, con un sabor bastante amargo.

La hoja trujillo, (*Erythroxylum novogranatense*) de Perú y Colombia, tiene menos concentraciones que la hoja huanaco (*Erythroxylum coca*) de Bolivia. Para hacer la pasta base basta con los siguientes precursores: petróleo o queroseno, ácido sulfúrico y un álcali que puede ser cal, carbonato sódico o potasa.

Según relato de un cocinero colombiano durante la primera fase, *la salada*, se mezclan las hojas con la potasa y se las deja reposar en un barril o en un hoyo para que comiencen a disolverse los alcaloides. En la segunda, *la mojadura*, el queroseno se vierte sobre las hojas hasta empaparlas y se agrega un poco de ácido sulfúrico diluido para que ayude a descomponer las hojas.

Esto permanece así durante 36 horas, al cabo de las cuales, los alcaloides flotan libremente en el queroseno que los absorbe. En la tercera fase, *la prensa*, se separa de las hojas todo el queroseno posible y mediante un sifón se trasvasa el queroseno a un barril y se desechan las hojas que han quedado negras y muertas. La penúltima fase, *la guarapería*, es la más delicada. Se agrega agua y ácido sulfúrico al queroseno y se deja reposar durante un día. El ácido penetra y separa los alcaloides que se disuelven en el agua. Al final, el queroseno está arriba y el guarapo abajo. Éste guarapo es una solución de cocaína y demás alcaloides a la que se le agrega más potasa o amoníaco para conseguir que éstos se precipiten. El guarapo adquiere entonces un color blanco lechoso y está listo para pasar a la última fase: *la secadería*, que consiste en filtrar el precipitado; para ello se utiliza una sábana y se deja secando al sol o con focos hasta que adquiere la consistencia del barro húmedo. A partir de entonces está lista para venderse como pasta base para hacer cocaína o para dejarse secar por completo y venderse como bazuko. Químicamente es estable y puede transportarse en cualquier clima sin que pierda su potencia.¹⁶

COMPOSICIÓN QUÍMICA



3-benzoyl-N- metilecgonina

La cocaína es un alcaloide que se extrae de la planta de coca y que químicamente es la benzoilmetilecgonina. La ecgonina es una base nitrogenada relacionada con la atropina. La cocaína es un éster del ácido benzoico y una base nitrogenada con la estructura de una amina terciaria responsable de las propiedades anestésicas locales y puede considerarse formada por 3 porciones: un grupo lipofílico que lleva una función éster en éste caso, un grupo hidrofílico que es una función amina terciaria en éste caso, y una cadena intermedia o pivote.

Sinónimos:

(-)-cocaína;

β-cocaína

Benzoilmetilecgonina
Metilbenzoilecgonina
Eritroxilin
Ecgonina metil ester benzoato
Coca
Nieve
Pericazo
Coca-Cola
Polvo
Cocazo
Cocada
Talco
Pase

PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS

La cocaína es uno de 14 alcaloides extraídos de las hojas de 2 especies de *Erythroxylum*: *E. coca* (que se encuentra al Sur de América, América Central, India y Java) y *E. novogranatense* (en América del Sur).

Fabricación Local:

Las hojas se dejan en un alcali, ácido sulfúrico, parafina y otros disolventes: la mezcla forma una pasta espesa café, la que contiene 40 a 91% de cocaína. Enseguida los alcaloides son precipitados con carbonato de sodio y después se disuelven en ácido clorhídrico diluido, para producir clorhidrato de cocaína. La extracción del Clorhidrato de cocaína en solución acuosa de éter o alcalina produce la base libre o "Crack", el cual contiene 85-90% de cocaína pura.

Fabricación Farmacéutica.

La cocaína es una droga semi-sintética obtenida de la ecgonina, un producto de la saponificación de los alcaloides de la hoja de coca; la ecgonina es esterificada con alcohol metílico en presencia de un exceso de cloruro de hidrogeno. Se forma la metilecgonina por el tratamiento con anhídrido benzóico.¹⁷

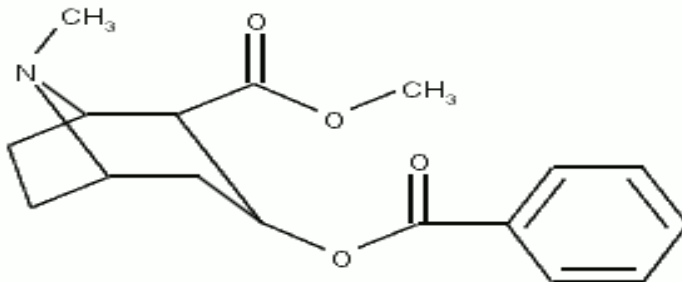
La cocaína usada en la calle por adictos puede ser mezclada con un gran número de diluentes, es quizá la droga más sujeta a sufrir adulteraciones.

Hay dos tipos de "cortes" o adulterantes para la cocaína. Los cortes inactivos sirven para dar peso: lactosa, talco, bórax, Manitol® (que es un

laxante italiano) o cualquier otra cosa que se parezca a la cocaína y no tenga efectos colaterales perceptibles de manera inmediata. Para compensar la potencia perdida en la adulteraciones, se le añaden también cortes activos, que pueden ser de dos clases: excitantes (anfetaminas en polvo) para que tenga una subida fuerte y congelantes (novocaína o Benzocaína) para imitar el efecto característico de adormilar la boca de la auténtica cocaína.

En términos generales, el que distribuye la mercancía por kilos, la corta normalmente con bórax, lactosa o Manitol®, para dejarle una pureza de entre 85 y 80%; el que la compra en kilos y la vende por onzas la corta con anfetamina y algún anestésico derivado de la coca para dejarla entre 70 y 60%; el que la compra en onzas y la vende en gramos, la corta con lo que se le ocurre, incluyendo gis o talco, y/o nuevamente procaína y novocaína que siendo substancias 70% más tóxicas que el bórax, el Manitol® y la lactosa, añaden además dificultades de solubilidad, haciendo más peligrosa su administración intravenosa y la dejan con sólo un 30 a 40% de cocaína. Si es que pasa por un revendedor más puede acabar hasta en un 20%. El caso es que el consumidor que compra por gramos, rara vez recibe más allá del 50% de cocaína pura, la cantidad acostumbrada en las muestras callejeras actuales oscila entre el 20 y el 40%.^{16,17}

Estructura Química.



Nombres químicos.

Benzoylmethylecgonine;

(1R,2R,3S,5S)-2-Methoxycarbonyltropan-3-yl benzoate;

2β-carbomethoxy-3β-benzoyltropane;

1αH, 5αH-tropane-2β-carboxylic acid 3β-hydroxy-methyl ester benzoate;

3-tropanylbenzoate-2-carboxylic ester del metilo ácidos;
3-(benzoyloxy)-8-methyl-8-azabicyclo-[3.2.1.]
octane-2-carboxylic metil ester acid

P.M. = 303.4

Fórmula molecular $C_{17}H_{21}NO_4$

Propiedades Físicas.

Color: el clorhidrato de cocaína es incoloro o blanco, la cocaína base es blanca.

Estado Físico: el clorhidrato de cocaína es sólida en cristales, así como la cocaína base.

Descripción:

Clorhidrato de Cocaína: cristales higroscópicos, sin olor y sabor amargo.

Solubilidad en agua es de 200g por 100 mL, en alcohol es de 25g por 100mL, en éter es de 28.6g por 100mL.

Punto de Fusión es de $195^{\circ}C$, con descomposición

Punto de Ebullición es de $197^{\circ}C$

Solución al 1% es de pH neutro

La base libre de cocaína: Son cristales ligeramente volátiles, anhidra, sabor amargo.

Solubilidad en agua es de 0.17g por 100mL, en alcohol es de 15.4g por 100mL, en eter es de 28.6g por 100mL.

Punto de fusión es de $98^{\circ}C$

Punto de ebullición es de 187 a $188^{\circ}C$

pH alcalino ¹⁷

Rutas de Exposición.

Oral.

El uso de cocaína por vía oral con mezclas de analgésico para el cuidado terminal es polémico y no es recomendado en la actualidad. La cocaína puede ser abusada por vía oral o sublingual. Los contrabandistas de droga, llamadas "mulas", a veces tragan el producto en composiciones inconstantes

(por ejemplo condones) los cuales pueden gotear o romperse causando una intoxicación masiva.

Inhalación.

Esta vía no tiene uso terapéutico. El Crack es abusado por inhalación de vapores de los cigarrros (los cuales están mezclados con tabaco o marihuana) o después de calentarla en un dispositivo llamado pipa de cocaína. La Pasta de la coca puede ser fumada también.

Más adictos a la droga actualmente abusan de ella por vía nasal y el clorhidrato de cocaína puede ser "olfateado" en "líneas" en una superficie como un espejo. El uso por esta vía lleva a complicaciones pulmonares.

Dérmica.

No está descrita.

Oftálmica.

La vía intra-ocular no es usada terapéuticamente.

Parenteral.

No hay uso terapéutico por esta vía .

Los adictos a ésta droga se inyectan clorhidrato de cocaína por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa sólo o con heroína.

Otros.

La cocaína puede ser administrada por vía rectal, vaginal y uretral. La cocaína se usa terapéuticamente como anestesia local del tracto respiratorio superior.^{14.16.17}

Mecanismo de acción.

La dopamina es sintetizada a partir del aminoácido tirosina, por acción de la enzima tirosina hidroxilasa, llevando a la formación de Dopa. Esta a su vez sufre una descarboxilación originando dopamina, el cual es almacenado en el interior de vesículas, a nivel de dos terminales presinápticas, para ser

liberada en la hendidura sináptica y transmitir un estímulo neuronal. Una vez en la hendidura, la dopamina podrá ser catabolizada o recapturada en la terminal pre-sináptica donde será metabolizada. La recaptación es realizada por transportadores dopaminérgicos encargados de captar parte de la dopamina liberada en la hendidura sináptica y devolverla a la terminal pre-sináptica a fin de ser reciclada.^{14,15,18}

La cocaína induce un aumento del influjo del ion calcio en las neuronas dopaminérgicas. El calcio intracelular aumentado activa las fosfolipasas, que posiblemente actúan como segundos mensajeros, provocando la liberación final de dopamina en la sinapsis. La acción prolongada de las fosfolipasas, sin embargo, produce finalmente la muerte celular. La cocaína es neurotóxica. También tiene un efecto tóxico general por la formación de un radical libre N-óxido producido en el metabolismo de este compuesto en el hígado.²³

La cocaína bloquea la conducción del canal de sodio y en relación con el incremento al umbral requerido para generar un potencial de acción. También incluye la habilidad de bloquear la recaptación de neurotransmisores como la norepinefrina o noradrenalina (NE); dopamina (DA) y serotonina (5TH).

prevee la recaptura de dopamina y noradrenalina, las cuales se acumulan y estimulan los receptores neuronales. (ver Figura 2.)

La cocaína estimula una recompensa o uso continuo, bloquea una recaptación de dopamina y aumenta la concentración o tiempo de permanencia e intensidad de cada sustancia sobre los receptores pos-sinápticos. Como la cocaína inhibe la recaptación de catecolaminas en las terminaciones nerviosas adrenérgicas, potencia la actividad del sistema nervioso simpático.^{14,15,18}

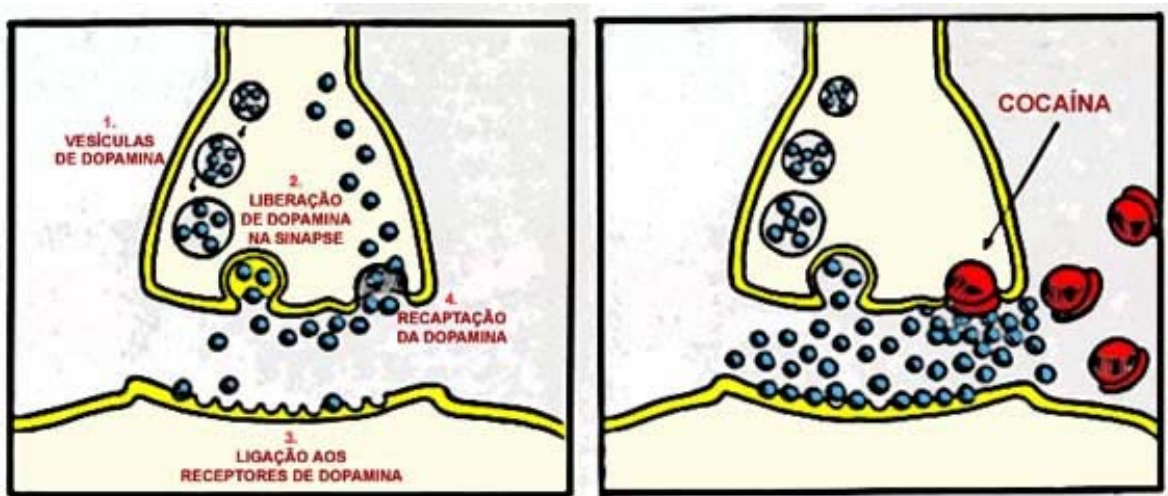


Figura 2. Mecanismo de acción de la cocaína.

Farmacocinética.

Absorción por vías de exposición.

La cocaína es absorbida por todas las vías de administración, pero la proporción absorbida depende de la vía de administración.

Después de una administración oral, la cocaína aparece en sangre alrededor de 30 minutos después, alcanzando una concentración máxima de 50 a 90 minutos.

En medio ácido, la cocaína se ioniza, y no cruza dentro de las células. En medio alcalino, hay menos ionización y la absorción aumenta rápidamente.

Por vía oral o intra-nasal, del 60 al 80% de la cocaína es absorbida. Por inhalación, la absorción puede variar de 20 a 60%, el principio de la variabilidad se relaciona con una vasoconstricción secundaria.

Por vía nasal, los efectos clínicos son evidentes 3 minutos después de la administración, y durante los últimos 30 a 60 minutos, la concentración máxima en plasma empieza alrededor de los 15 minutos.

La base libre no sufre efecto del primer paso en el metabolismo hepático, y la concentración en plasma sube inmediatamente de 1 a 2 mg por litro. Los efectos en el cerebro ocurren rápidamente, después de 8 a 12 segundos, son muy violentos (flash).

Por vía intravenosa la máxima concentración en sangre se alcanza en pocos minutos.

Distribución por vía de exposición.

La cocaína se distribuye dentro de todos los tejidos del cuerpo, y cruza la barrera hemato encefálica.

Después de una dosis intravenosa de cocaína las concentraciones altas se encuentran en el cerebro, bazo, riñón y pulmón después de 15 min, con las concentraciones más bajas en la sangre, corazón y músculo. La unión a proteínas plasmáticas en humanos es aproximadamente 91% a bajas concentraciones.

En dosis grandes y repetidas, es probable la acumulación en el sistema nervioso central y en tejido adiposo, como resultado de la solubilidad en lípidos. El volumen de distribución es, acorde a diferentes autores, entre 1 y

3 litros por kg. La cocaína cruza la placenta por difusión simple, y se acumula en el feto después de uso repetido.

Vida media por vía de exposición.

La vida media depende de la ruta de administración, la dosis, y la tolerancia de cada individuo. Es del orden de 0.7 a 1.5 horas. Después de una administración oral, está parece ser de 0.8 horas, por vía nasal de 1.25 horas, por vía parenteral de 0.7 a 0.9 horas.

Para dosis terapéuticas no hay tolerancia a los efectos de la cocaína, pero cuando se usa en abuso puede llevar a subir la dosis para obtener el mismo efecto de euforia, hay casos de adictos que toman más de la dosis letal reconocida.

Metabolismo.

El metabolismo de coca se lleva a cabo principalmente en el hígado dentro de las 2 horas después de su administración. La proporción metabolizada varía de acuerdo a la concentración en plasma. Hay tres vías de biotransformación:

La vía principal es la hidrólisis de la cocaína por esterasas hepáticas, con la pérdida de un grupo benzoil para dar el éster metílico de la ecgonina. La actividad de la esterasa varía substancialmente de un sujeto a otro. La vía secundaria es una hidrólisis espontánea, probablemente no enzimática, la que lleva a la benzoilecgonina por desmetilación. La degradación final de la cocaína, la cual es una secuencia de ambas (principal y secundaria) que llevan a la ecgonina. La N-desmetilación de cocaína es una vía menor que lleva a norcocaína. (Ver Figura 3.).^{5,17}

Los principales metabolitos son por consiguiente la benzoilecgonina, ecgonina metiléster y la ecgonina en sí que es inactiva; y norcocaína la cual es activa y puede ser relevante después de una intoxicación aguda.^{5,17}

En presencia de alcohol, se forma un metabolito activo la cocaetileno y es más tóxica que la cocaína en sí. El rango de metabolismo de la cocaína está

reducida en mujeres embarazadas, ancianos, pacientes con enfermedad hepática y aquellos con deficiencia congénita de la Colinesterasa.^{5,6,17}

El metabolito anhidroecgonina metiléster se encuentra en usuarios de fumadores de cocaína.⁵

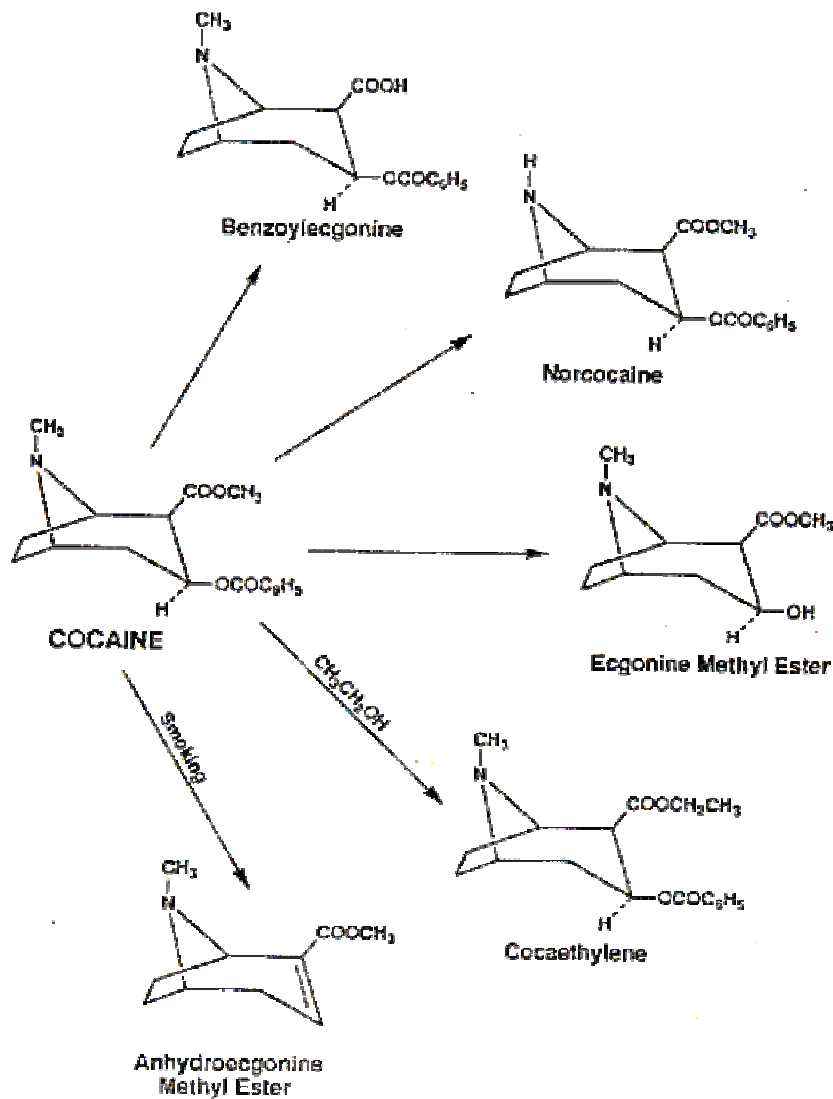


Figura 3. Metabolitos de la cocaína¹⁸

Eliminación

Aproximadamente 85% al 90% de una dosis de cocaína y de sus metabolitos se recupera dentro de las primeras 24 horas en la orina. De 1 a 9% de la cocaína es eliminada inalterada en la orina, con una mayor proporción en orina ácida. Del 32% al 49% como ecgonina metiléster, del 35% al 54% como benzoilecgonina su principal metabolito. Al final de 4 horas, la mayoría de la droga es eliminada del plasma, pero sus metabolitos pueden ser identificados por arriba de 144 horas después de la administración. La cocaína inalterada es excretada en materia fecal y saliva. La cocaína y la benzoilecgonina pueden ser detectados en la leche materna después de 36 horas de su administración y en la orina de neonatos por tanto como 5 días. La cocaína base libre cruza la placenta, y la norcocaína persiste de 4 a 5 días en líquido amniótico, incluso cuando no es detectable en sangre materna.^{6,16}

EFFECTOS FARMACOLÓGICOS.

Produce euforia o sensación de bienestar y satisfacción, el que la usa se siente dotado de gran poder y se considera capaz de hacer frente a cualquier clase de problema, siente una enorme energía y no se cansa, puede mantenerse despierto o trabajar durante largo tiempo.

Hay una dilatación de las pupilas, elevación del pulso y temperatura, además de trastorno en las relaciones sexuales normales. El tiempo de duración del efecto varía de la forma en que se administra, si se inhala en forma de polvo, el efecto dura de 20 a 40 minutos, inyectada dura de 10 a 15 minutos, pero se experimenta una sensación sumamente intensa. Como el efecto es transitorio, el usuario debe de seguir administrándose la cocaína cada 30, 40, o 50 minutos para continuar experimentando la sensación agradable.

La cocaína es vasoconstrictora y debido a eso, se han dado casos de usuarios crónicos en que se ha producido una perforación del tabique nasal. Además, al contraerse los vasos sanguíneos, aumenta la presión de la sangre y los latidos del corazón. Ocasionalmente la cocaína ha producido muerte repentina. El uso de la cocaína tiende a aumentar la agresividad del usuario, si una persona se administra cocaína varias veces al día, suele experimentar sentimientos de paranoia, sospecha y hostilidad, que pueden desencadenar actos de violencia.^{5,6}

MECONIO.

El meconio es el término médico para referirse a las primeras heces del recién nacido. El meconio es un líquido viscoso y verdoso compuesto de :

- a) secreciones gastrointestinales
- b) restos celulares
- c) bilis
- d) jugo pancreático
- e) moco, sangre, lanugo deglutido (bello fino que cubre el cuerpo del bebe).
- f) Agua (72-80%)
- g) Líquido amniótico

Los lípidos comprenden el 8% de sus peso seco (47% como ácidos grasos libres y 53% en forma de ésteres de ácidos grasos), la bilirrubina contribuye con 1 mg por gramo y se han detectado más de 33 esteroides, proteínas y polisacáridos.

Durante el embarazo el bebe flota en el líquido amniótico en el interior del útero de la madre. Este líquido lo protege mientras crece y se desarrolla, el feto traga líquido amniótico que contiene todos los componentes mencionados anteriormente. Todos los componentes distintos al líquido amniótico son filtrados y dejados en la parte posterior del intestino mientras el líquido amniótico es absorbido y liberado de nuevo cuando el feto orina.

Este ciclo mantiene el líquido amniótico en un estado claro y sano durante los 9 meses del embarazo y es un proceso de reciclaje del líquido amniótico que ocurre cada tres horas.

El meconio empieza a formarse en el intestino fetal a las 18-20 semanas de embarazo. La acumulación de sustancias se debe a su depósito directo a través del árbol biliar o de la ingesta fetal del líquido amniótico. Los metabolitos de las drogas están fuertemente unido a fragmentos celulares presente en el meconio, impidiendo su difusión. Por lo tanto, el meconio debe reflejar la exposición intrauterina durante el segundo y tercer trimestres del embarazo. ^{1,7,8,9}

ORINA:

La orina es un líquido acuoso transparente y amarillento, de olor característico, excretado por los riñones y eliminado por el aparato urinario. Después de la producción de orina por los riñones, ésta recorre los uréteres hasta la vejiga urinaria donde se almacena y después es expulsada del cuerpo a través de la uretra, mediante la micción.

El ser humano elimina aproximadamente 1.4 litros de orina al día. Cerca de la mitad de los sólidos que contiene son urea, el principal producto de degradación del metabolismo de las proteínas. el resto incluye sodio, cloro, amonio, creatinina, ácido úrico y bicarbonato.

La orina puede ayudar al diagnóstico de varias enfermedades mediante el análisis de orina o el urocultivo. Los riñones nos ayudan a la elaboración y a la excreción de orina.

Cada día, los riñones filtran 180 litros de sangre y producen una media de 1500 mililitros de orina. En cada glomérulo renal la sangre se filtra por un fenómeno de ósmosis: el glomérulo se descarga de agua, de sustancias minerales y biológicas. Esta orina primaria circula por un sistema de túbulos que componen la nefrona como el túbulo contorneado proximal, asa de Henle, túbulo contorneado distal, donde la orina por un lado se enriquece sucesivamente de diversas sustancias como urea, amonio, bicarbonato (excreción) y por otro se descarga de ciertos compuestos recuperados por el organismo como el agua, glucosa y sales minerales (reabsorción). Los fenómenos de excreción y de absorción son regulados por varias hormonas, como la hormona antidiurética. La orina que circula por todos los túbulos contorneados distales es reunida en los túbulos de Bellini, después éstos se unen en los cálices renales y en los uréteres que desembocan en la vejiga urinaria. Una vez que el contenido vesical alcanza un nivel, el deseo de orinar se transmite al cerebro para vaciar la vejiga durante la micción. ¹⁰

La identificación exacta de la exposición prenatal a cocaína es crítica por 2 razones: para entender completamente la naturaleza del problema y para determinar apropiadamente una intervención médica y psicológica. Los métodos utilizados para identificar la exposición prenatal a la cocaína varía

e incluyen entrevista, cuestionar sobre la automedicación, pruebas de orina a la madre y el infante y pruebas de cabello y meconio, resultando generalmente datos disparatados del tipo de cocaína usado por la mujer embarazada. El reporte materno de uso de drogas es problemático por el miedo a las consecuencias por admitir el uso de una sustancia ilegal, y la inexactitud para recordar, detalles tales como: ¿cuándo?, ¿cuánto?.

Los biomarcadores de la exposición a la cocaína en el útero en el neonato incluyen la medición de la droga en sangre, orina, cabello, meconio y recientemente en aspirado gástrico y líquido amniótico.

La orina ha sido generalmente el espécimen más usado, el meconio es más adecuado que la orina para detectar la exposición fetal a la coca. En la detección en orina los valores de exposición son bajos porque los metabolitos de la cocaína son medibles en orina por no más de 96 a 120 horas después de la última vez que se usó la droga, en contraste al meconio, en el cual se puede detectar el uso de la cocaína todo el tiempo en la segunda mitad del embarazo.⁴

El metabolito de la cocaína puede ser recuperado en altas concentraciones en el meconio de hijos de madres cocaína-dependientes. Como en adultos, las drogas de abuso en el feto son metabolizadas por el hígado en derivados solubles en agua que son excretados en la bilis u orina. Únicamente en el feto, los metabolitos de la droga se acumulan en meconio o por deposición directa en la bilis, a través de la ingestión de los metabolitos en el líquido amniótico o ambos. Estos factores pueden explicar porque hay una alta concentración y una considerable recuperación de los metabolitos de la droga en meconio más que en la orina del infante, la cual es excretada por el útero. El meconio es fácilmente colectado y en comparación con la orina, cuantitativa y cualitativamente contiene más metabolitos, que pueden ser detectados a lo largo de 3 días después del nacimiento.³

Un estudio *postmortem* sugiere que la concentración de cocaína en meconio es proporcional a las cantidades de cocaína usada por la madre durante la gestación. La presencia de cocaína en varios segmentos de el intestino fetal esta relacionada a las veces que la madre usó la cocaína.¹¹

RECOLECCIÓN:

Las heces, se obtienen directamente de el pañal.

Las muestras de orina se toman con colector de orina.

Las muestras colectadas son congeladas a $-23^{\circ} C$ hasta el día del análisis.

A continuación se detallarán algunos métodos de análisis:

Un método de extracción del metabolito de cocaína para muestras de orina:

- ✓ Se mide el volúmen de orina
- ✓ Se le agrega 1mL de HCl concentrado
- ✓ La mezcla se centrifuga (9770 g X 10 min).
- ✓ Una alícuota de el sobrenadante se toma para el análisis. ³

Algunos métodos de Extracción para metabolito en muestras de meconio:

Método 1

- ✓ Se recolectan, 0.5 a 0.6g de heces.
- ✓ Se mezclan y agitan con 10mL de agua destilada y 1mL de HCl concentrado .
- ✓ Éste homogenizado se filtra .
- ✓ El filtrado se centrifuga (9970Xg, 10 min).
- ✓ Se utiliza una alícuota del sobrenadante para análisis. ^{12,13}

Método 2

- ✓ Se recolecta 1g de meconio y se homogeniza en 3mL de ácido acético glacial.
- ✓ Se agregan difenilamina en acetona (1.67 mg/L; 6 mL).
- ✓ La solución resultante se mezcla y centrifuga.
- ✓ La capa superior se evapora a sequedad.
- ✓ La muestra se reconstituye en buffer Abbott AD-metanol (50:50; 0.7 mL) y se centrifuga.
- ✓ La capa superior de lípidos se aspira, y el extracto concentrado se analiza. ¹³

MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN.

Pueden utilizarse diversas técnicas para detectar la presencia de metabolitos de drogas en orina, suero, pelo, uñas y meconio. Las pruebas incluyen cromatografía de capa fina (CCF) y el inmunoensayo. Esta es la técnica de ensayo de sustancias más frecuentemente empleada en la práctica clínica. Dentro de las técnicas de inmunoensayo se incluye la técnica de inmunoensayo enzimático múltiple (EMIT); el Radioinmunoensayo (RIA), y el inmunoensayo de polarización con fluorescencia (FPIA). Todas las técnicas de inmunoensayo comparten un mecanismo común; existe un anticuerpo específico que reacciona con la sustancia que se está detectando para producir una molécula o complejo que puede ser medida. Las ventajas del inmunoensayo son que pueden estudiar casi todas las sustancias y drogas; los resultados son rápidos y, debido a la amplia reactividad cruzada, las pruebas pueden identificar una familia de drogas más que la droga concreta. Los inconvenientes son la aparición de resultados falsos positivos. Por lo que los resultados positivos deben confirmarse mediante técnicas más sofisticadas.

Entre las técnicas utilizadas para confirmar un resultado presuntivo positivo se incluyen la cromatografía de gases, la cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS), la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la cromatografía líquida / espectrometría de masas (LC/MS) y otros métodos. La GC y la MS son sensibles y específicas por lo cual se consideran el "patrón de referencia" para la identificación de drogas en orina y así saber si hay o hubo consumo de las mismas.

La duración del tiempo en que los resultados de la prueba permanecen positivas tras el consumo de la sustancia varía según la misma, el grado de consumo y la sensibilidad de la prueba empleada. Con las técnicas de inmunoensayo la mayoría de drogas se detectan por lo menos durante 2-3 días tras el último consumo. En el neonato la detección de metabolitos de drogas en orina se ve limitada por la dependencia del grado de paso transplacentario: el momento de la última ingesta por parte de la madre y el momento en que se recogió la orina del niño.

La determinación única en orina no identifica aproximadamente al 50% de los niños expuestos a drogas. Consecuentemente se ha sugerido el estudio de otras muestras como el meconio y cabello para optimizar la detección de drogas.^{1,22}

INMUNOENSAYOS.

INMUNOANÁLISIS ENZIMÁTICO (IAE)

Los inmunoensayos enzimáticos están considerados entre las pruebas inmunológicas más sencillas para detectar los metabolitos de las drogas de abuso en fluidos biológicos. Es capaz de detectar cantidades muy pequeñas de reactivos inmunológicos. Sus ventajas e inconvenientes son:

Ventajas-

- *Pueden desarrollarse análisis sensibles por el efecto de amplificación de las enzimas.
- *Los reactivos son relativamente baratos y alcanzan una larga vida media de conservación.
- *Pueden desarrollarse múltiples análisis simultáneamente.
- *Se pueden realizar una amplia variedad de configuraciones analíticas
- *El equipo necesario es barato y fácilmente asequible
- *No hay riesgos de radiación durante el marcado ni en la eliminación de los productos.
- *Se puede desarrollar un (IAE) rápido y simple, adaptable a la automatización.
- *Se puede desarrollar un (IAE) homogéneo para los haptenos y las proteínas.

Desventajas-

- *Puede ser más complejo medir la actividad de las enzimas que la de algunos tipos de radioisótopos.
- *La actividad enzimática puede afectarse por los constituyentes del plasma.
- *Los análisis homogéneos alcanzan actualmente una sensibilidad de 10^{-9} M, no tan elevada como la que se consigue con los radioinmunoanálisis.

Existen dos tipos fundamentales de (IAE): el heterogéneo y el homogéneo. En el primer sistema, la reacción antígeno-anticuerpo no modifica la actividad del marcador enzimático. En el segundo, la interacción antígeno-anticuerpo modula la actividad de la enzima, lo que hace que desaparezca la necesidad de un paso de separación.^{22,23}

Las enzimas empleadas con más frecuencia en los distintos (IAE) son:

(IAE) heterogéneos-

- *Peroxidasa de rábano
- *Fosfatasa alcalina
- * β -D-Galactosidasa
- *Glucosa-oxidada
- *Glucoamilasa
- *Anhidrasa carbónica
- *Acetilcolinesterasa
- *Catalasa

(IAE) homogéneos-

- *Lisozima
- *Malato-deshidrogenasa
- *Glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa
- *Fosfolipasa-C
- * β -d-Galactosidasa

(IAE) heterogéneos

Todos los (IAE) heterogéneos tienen al menos, un paso de separación para diferenciar entre el material que ha reaccionado y el que no lo ha hecho. En el sistema de (IAE) heterogéneo, la enzima sobre el antígeno o el anticuerpo marcados conserva su actividad, incluso después de la reacción con el anticuerpo o antígeno recíprocos. Un ejemplo de un (IAE) heterogéneo es el (ELISA) (enzyme-linked-immunosorbent assay o análisis de inmunoabsorción enzimática).

(IAE) homogéneos

Muchas pruebas para determinar drogas que se practican hoy día utilizan el llamado inmunoanálisis homogéneo. El término homogéneo puede ser aplicado a cualquier sistema de reacción antígeno-anticuerpo, en el que sea posible medir el grado de reacción inmunológica sin separación de los componentes "libres" y marcados con anticuerpo, éstos análisis son practicados en un solo tiempo, es decir, sólo se utiliza un anticuerpo en la operación.

Los (IAE) homogéneos pueden precisar reactivos inmunoquímicos complejos, pero ofrecen la ventaja de ser rápidos, sencillos y adaptables a la automatización.

Un ejemplo de (IAE) homogéneos es el EMIT (enzyme-multiplied immunoassay technique o técnica de inmunoanálisis con multiplicación enzimática)

EMIT

La droga misma es fijada en forma covalente a una enzima como puede ser la fosfatasa alcalina. Cuando el complejo droga-enzima es incubado con el anticuerpo (habitualmente monoclonal) a la droga, la actividad enzimática disminuye de forma muy marcada como resultado del bloqueo del centro activo de la enzima por el anticuerpo. Cuando, la droga exógena (como la que está en suero) se añade al inmunocomplejo, esta droga exógena compite con la droga-enzima por el anticuerpo. La droga-enzima liberada provoca un aumento de la actividad enzimática. Concentraciones crecientes de droga en suero implican un aumento de la actividad enzimática observada. (ver Figura 4.) ^{21,22,23}

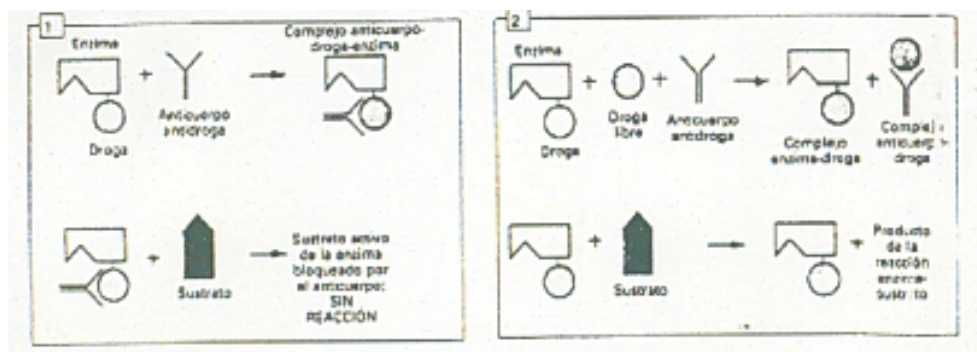


Figura 4. Método EMIT.

RADIOINMUNOANÁLISIS (RIA)

En el RIA el ligando y una cantidad constante de ligando radiomarcado compiten por un número limitado de sitios de unión del anticuerpo. La concentración de anticuerpo es usualmente suficiente para fijar entre 30 y

80% del material marcado. En el RIA se determina la radiactividad fijada al anticuerpo luego de la etapa de separación, la curva dosis-respuesta tendrá una pendiente negativa. A medida que la concentración de ligando no marcado aumenta y los sitios de unión del anticuerpo se aproximan a la saturación, la pendiente se eleva. Cuando se monitorea el ligando radiomarcado no combinado, la curva dosis-respuesta tiene una pendiente positiva.^{6,23}

FLUOROINMUNOANÁLISIS DE POLARIZACIÓN. (FIAP)

Es un método particularmente sensible y fino. La droga, más que ligada a una enzima es enlazada en forma covalente aun marcador fluorescente. Si una molécula fluorescente es excitada con luz polarizada y la molécula es estacionaria es decir, no precipita, emitirá luz polarizada como un fluoróforo. Sin embargo, si un fluoróforo precipita libremente en solución, la polarización se pierde. No obstante, si él está unido a una macromolécula, como un anticuerpo, la polarización es fuerte, porque al estar unida a un anticuerpo no precipita y permanece relativamente estacionaria. En éstos análisis, la droga marcada es incubada con el anticuerpo. La fluorescencia de la droga marcada es, naturalmente alta, porque el marcador fluorescente está relativamente inmovilizado al estar unido al anticuerpo dirigido contra él. Además de la droga exógena, como la del suero, la incubación de la mezcla comporta el desplazamiento de algunas de las moléculas de droga marcada. Estas moléculas desplazadas pueden ahora precipitar libremente en solución. El resultado es una disminución de la fluorescencia, directamente proporcional a la concentración de droga en suero. Éste análisis detecta niveles de droga de nivel nanomolar, y es a la vez altamente sensible y específico.

(ver Figura 5.)^{22,23}

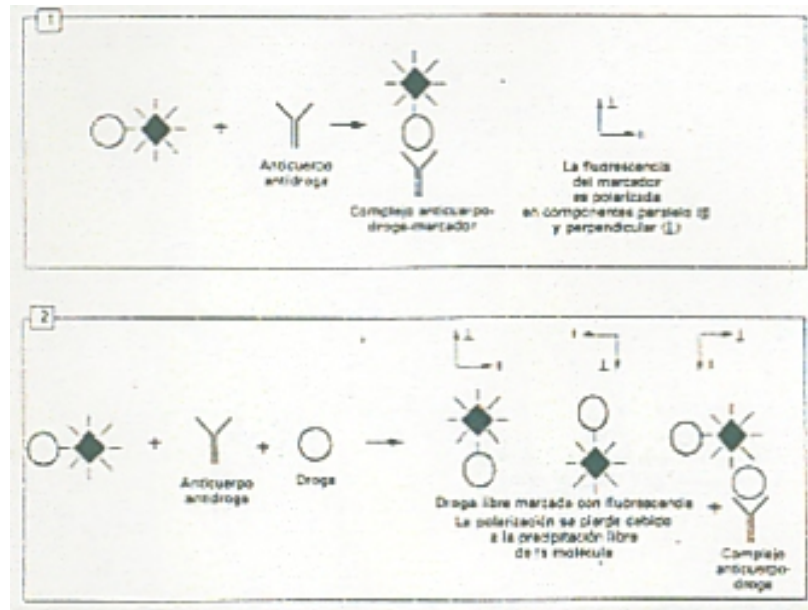


Figura 5. Método de Polarización de Fluorescencia

CROMATOGRAFÍA.

El modo más comúnmente utilizado para realizar separaciones analíticas es la cromatografía. Es un método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales constituye la fase estacionaria, de gran área y la otra es un fluido (fase móvil) que pasa a través o a lo largo de la fase estacionaria.

La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido dispuesto sobre un sólido que actúa como soporte, de gran área. La fase móvil es un fluido (puede ser gas, líquido o fluido supercrítico) que se usa como portador de la mezcla.^{20,26}

Cromatografía de gases.

La cromatografía de gases (CG) es una técnica de separación física que separa compuestos basados en su distribución entre un gas y una fase estacionaria. La fase estacionaria puede ser un líquido y un sólido y la fase móvil es un gas que pasa sobre la fase estacionaria. Esta técnica permite separar un 10-20% de los compuestos conocidos. Para que un compuesto sea compatible en análisis por CG, debe tener suficiente volatilidad y estabilidad térmica, que todas o algunas de las moléculas de los compuestos

estén en la fase vapor o gas a 400-450°C o abajo, y que no se descompongan a estas temperaturas.^{6,19}

En la cromatografía de gases (CG), la muestra es vaporizada e inyectada dentro las columnas cromatográficas y se separan sus múltiples componentes. La elución es llevada por el flujo de una fase móvil gaseosa inerte y la fase estacionaria puede ser un líquido o un sólido.¹⁹

El principio general de la cromatografía es aplicable a la cromatografía de gases. El gas acarreador sirve como la fase móvil que eluye los componentes de una mezcla desde una columna que contiene una fase estacionaria inmovilizada. Esta partición se realiza de forma diferencial para cada uno de los solutos, dependiendo de la interacción que éstos presenten con la fase estacionaria. En contraste con muchos otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interactúa con las moléculas de los analitos, si no que su única función es transportar el analito a lo largo de la columna.^{5,6,19}

Cromatógrafo de gases.- Uno o más gases altamente puros son suministrados, uno de los gases (llamado el gas acarreador) fluye dentro del inyector, por la columna y después entra al detector. Una muestra es introducida al inyector, usualmente con una jeringa o un aparato de muestreo exterior. El inyector es usualmente calentado a 150-300°C, lo cual provoca que los solutos volátiles de la muestra se vaporicen. Los solutos vaporizados son transportados dentro de la columna por el gas acarreador. La columna es mantenida en un horno de temperatura controlada. Los solutos viajan a diferentes velocidades por la columna por sus propiedades físicas, la temperatura y composición de la columna. Como cada soluto eluye de la columna, entra al detector caliente. Una señal electrónica es generada a partir de la interacción del soluto con el detector. El tamaño de la señal es registrado por un sistema de datos y graficado contra tiempo para producir un cromatograma. (ver Figura 6.)^{5,19,24}

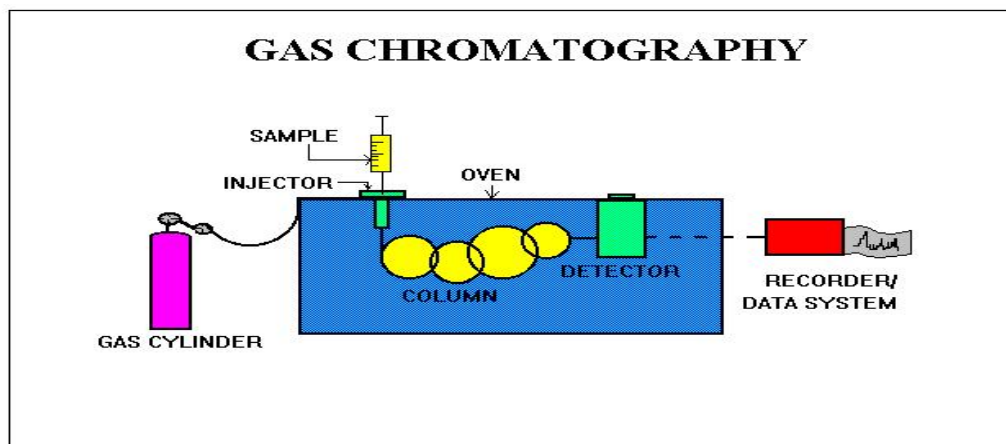


Figura 6. Diagrama de un sistema de Cromatografía de Gases.

INSTRUMENTACIÓN EN CROMATOGRAFÍA.

Sistema de gas portador.

El gas de la fase móvil en CG se llama gas portador. El Helio es el gas más usado; pero también se utilizan el Argón, Nitrógeno e Hidrógeno. Estos gases están disponibles en tanques presurizados. La elección del gas está con frecuencia determinada por el tipo de detector que se utiliza. Con el suministro del gas se encuentran asociados los reguladores de presión, manómetros y medidores de flujo. Además el sistema de gas portador contiene a menudo un tamiz molecular para eliminar el agua u otras impurezas.^{20,24}

Sistema de inyección.

La muestra debe introducirse como vapor en el volumen más pequeño posible y en un mínimo de tiempo, sin descomponerla o fraccionarla. Tanto la cantidad de muestra introducida como la técnica para hacerlo, deben ser reproducibles con un alto grado de precisión.²⁶

Las muestras líquidas de 1-10 μ l de volumen generalmente se inyecta con una microjeringa a través de una septa de caucho de silicón autosellable en un puerto de muestras calentado y que se localiza en la cabeza de la columna. La temperatura del inyector es controlada y ajustada a 50°C por arriba de la columna. La muestra se vaporiza en forma de un "tapón" y se transporta a la columna por medio de una corriente del gas portador.^{24,25,26}

Mientras más pequeña sea la muestra usada para la cromatografía de gases, tanto mejor será la forma del pico. Una muestra demasiado grande sobrecarga la columna y se obtiene un pico asimétrico con un frente con superposiciones.²⁶

Columna.

Es el lugar donde ocurre la separación. Se dice que es el corazón de un cromatógrafo. Los materiales con los cuales generalmente se pueden elaborar las columnas son: cobre, aluminio, acero inoxidable, vidrio ó teflón, sus dimensiones típicas son de 2 a 6 mm de diámetro interno y 1 a 3m de longitud cuando está empacada con un material de fase estacionaria o de 0.2-0.7 mm de diámetro interno y de 10 a 100m de longitud para una columna capilar. En CG se usan dos tipos generales de columnas, las empaquetadas o de relleno y las tubulares abiertas o capilares.

Las columnas capilares tienen una trayectoria abierta no restringida para la circulación del gas portador en la columna. La columna tubular abierta con paredes recubiertas es un tubo largo de perforación estrecha (con un diámetro interno de 0.25 mm) en el que la pared interior se recubre con la fase líquida estacionaria, formando una película de 1 μ m de espesor.^{24,25,26}

Fase estacionaria.

Las propiedades recomendables de la fase líquida inmovilizada en una columna de cromatografía de gas-líquido abarcan: * baja volatilidad (en teoría, el punto de ebullición del líquido debe ser por lo menos 100°C mayor que la temperatura operativa máxima de la columna); * estabilidad térmica; * naturaleza química inerte, y * características de disolvente, como valores de k y α tales que todos los solutos que deban resolverse caigan dentro de un intervalo apropiado. La elección adecuada del los disolventes es una etapa crítica para el éxito de la separación.^{25,26}

Horno.

La temperatura de la columna se mantiene constante con un horno controlado térmicamente, la temperatura óptima de operación será gobernada por la naturaleza de la muestra y también por la fase estacionaria.⁽²⁴⁾

Soporte.

El objetivo del soporte es proporcionar una superficie inerte sobre la que pueda colocarse la fase líquida estacionaria de la columna empacada. Los materiales de mayor uso son las tierras diatomeas y el teflón. Los soportes de tierras de diatomeas pueden ser materiales derivados de ladrillos refractarios. Las partículas de soporte habituales son de 60-80 mallas (250-170 μm) y 80-100 mallas (170-149 μm). ^(25,26)

Detector.

Es un dispositivo para revelar la presencia de las sustancias eludías a la salida de la columna cromatográfica. El detector es un dispositivo capaz de convertir una propiedad física, no medible directamente, en una señal tratable y ofrecernos información sobre la naturaleza y magnitud de la propiedad física.

Las características de un detector ideal:

- *adecuada sensibilidad. Medida de la efectividad de un detector par convertir la muestra en una señal eléctrica medible.
- *buena estabilidad y reproducibilidad.
- *linealidad. Rango de masa o concentración de muestra sobre el cual el detector mantiene una sensibilidad constante sin una desviación arbitraria. Indica al analista la concentración para la cual el detector es confiable.
- *un intervalo de temperaturas de trabajo comprendido desde la temperatura ambiente hasta al menos 400°C.
- *un tiempo de respuesta corto.
- *alta fiabilidad y manejo sencillo.
- *no destructivo de la muestra.

-----*(de hecho, no hay detector que reúna todas esas características)*-----

Tipos de detectores:

Detector de ionización de flama.

Muchos compuestos orgánicos producen iones y electrones que puede conducir electricidad por la flama. Hay un electrodo por arriba de llama que colecta los iones en una flama hidrógeno/aire. El número de iones que chocan en el colector es medido y se genera una señal.

Detector de captura de electrones

Usa un emisor beta radiactivo (electrones) para ionizar algunos de los gases acarreadores y produce corriente entre una par de electrones. Cuando las moléculas orgánicas que contienen grupos funcionales electronegativos, pasan por el detector, éste captura algunos de los electrones y reduce la corriente medida entre los electrodos.

Detector termoiónico.

Es un detector selectivo de los compuestos orgánicos que contienen fósforo y nitrógeno.

Detector de conductividad térmica

Está fundamentado en cambios en la conductividad térmica y el seguimiento de gas. Los cambios en la conectividad térmica por la presencia de analitos causa una elevación de la temperatura en el elemento que es detectado como un cambio en resistencia.^{24,25,26}

Espectrometría de Masas.

La espectrometría de masas está relacionada con la producción de iones y la subsiguiente fragmentación de las moléculas, así como con la determinación de las relaciones masa/carga (m/z) y la abundancia relativa de los iones producidos. Por lo tanto, está relacionada con una propiedad fundamental de la materia, a saber, la verdadera composición molecular, más que con la absorción o emisión de luz.

Los grupos funcionales de una molécula determinan la fragmentación, de manera que, conociendo la estructura de la molécula, es posible predecir el patrón de la fragmentación. Inversamente, conociendo el patrón de fragmentación se puede sugerir una estructura para la molécula original. Además, la técnica permite determinar el peso molecular, lo que constituye la información más valiosa de un espectro de masas.^{27,25}

Descripción general de los componentes del instrumento.

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

La fuente de iones de un espectrómetro de masas convierte los componentes de una muestra en iones por bombardeo con electrones, iones

o fotones. Alternativamente, la ionización se lleva a cabo por energía térmica o eléctrica. En muchos casos el sistema de entrada y la fuente de iones están combinadas en un único componente. En ambos casos, lo que se obtiene es un haz de iones positivos o negativos (frecuentemente positivos) que es entonces acelerado en el analizador de masas.

La función del analizador de masas es parecida a la de la rejilla de un espectrómetro óptico. En el primero, sin embargo, la dispersión está basada en las relaciones carga/ masa de los iones del analito en vez de en la longitud de onda de los fotones. Existen diversos tipos de espectrómetros de masas, dependiendo de la naturaleza del analizador de masas.

Al igual que en un espectrómetro óptico, un espectrómetro de masas contiene un detector (para iones) que convierte el haz de iones en una señal eléctrica que puede ser entonces procesada, almacenada en la memoria de un ordenador y mostrada o registrada de varias maneras. Un hecho característico de los espectrómetros de masas, que no es común con los instrumentos ópticos (pero que se encuentra en los espectrómetros de electrones), es la necesidad de un sistema de vacío adecuado para mantener bajas presiones (10^{-4} a 10^{-8} torr) en todos los componentes del instrumento excepto el procesador de señal y dispositivo de lectura . (ver Figura 7.)^{25,26}

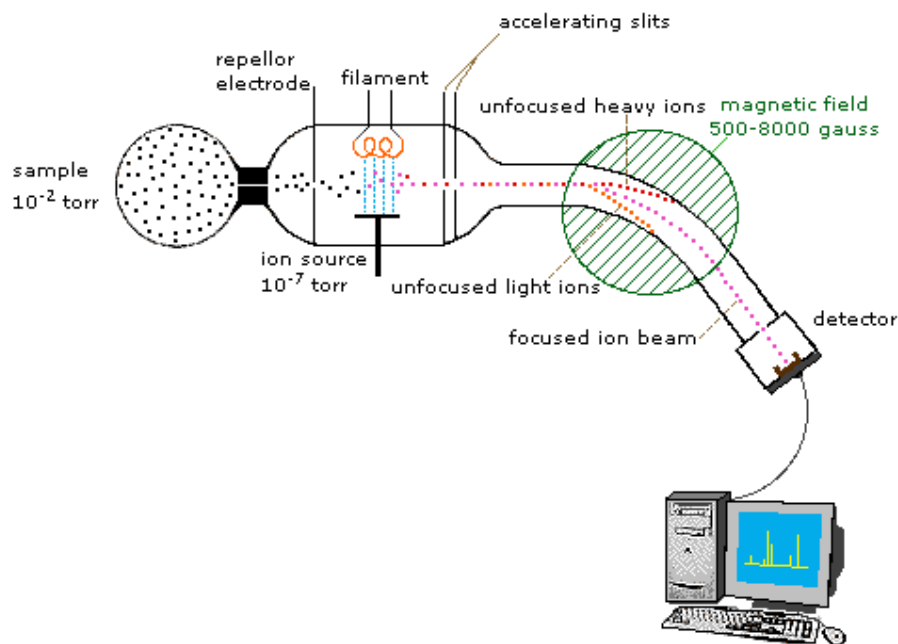


Figura 7. Esquema de un espectrometro de masas.

Cromatografía de gases/ Espectrometría de masas.

La CG-EM ha demostrado ser de utilidad analítica por sus grandes posibilidades y su fiabilidad. Esta metodología, como su nombre indica, implica dos técnicas: una cromatografía de gases y una espectroscopia de masa. El objetivo de un sistema de combinación consiste en operar tanto un cromatógrafo como un espectrómetro de masas sin degradar la efectividad de ninguno de los dos.²⁶

En la primera, los compuestos son calentados directamente en la fase gas o derivados para hacerlos lábiles y facilitar sus calentamiento en la fase gas. Se pasan entonces sobre una columna que contenga la fase estacionaria, que a menudo consiste en un líquido, habitualmente un hidrocarburo o un aceite de silicona, que reviste el soporte sólido de la columna y ofrece una gran superficie para la adsorción. La separación se basa en la capacidad de cada compuesto para adsorberse sobre la fase estacionaria, lo cual depende parcialmente de las solubilidades relativas del compuesto en la fase gas

contra su solubilidad en la fase líquida. Normalmente los compuestos que levigan de la columna podrían ser detectados por técnicas convencionales.
24,25

A altas temperaturas, los electrones de máxima energía del compuesto- es decir, de mínimo potencial de ionización- pueden ser excitados de modo que la molécula pierda o gane electrones y quede cargada. Este proceso puede ser ayudado por técnicas como el bombardeo de electrones en una cámara especialmente diseñada, que crea directamente moléculas-iones. La mayoría de estas moléculas-iones resultantes son cationes sueltos. Las diferentes moléculas-iones, en general, tienen tamaños y pesos moleculares diferentes y se descomponen en fragmentos característicos cuyas proporciones y posiciones de migración relativas son constantes. Las moléculas-iones se pasan luego a través de un campo eléctrico generado por cuatro varillas que son sometidas a corrientes rápidamente alternantes, el llamado detector cuadrupolo. Según como sea <sintonizado> el campo, ciertas moléculas-iones con proporciones pueden separarse sobre la base del peso molecular o más exactamente, de su proporción masa-carga. La presencia de la molécula-ion sobre la placa se detecta mediante un sistema detector multiplicador de carga. La técnica de *CG-EM* ha alcanzado un alto grado de refinamiento. Cada molécula-ion creada en la fase gaseosa puede sufrir nuevos cambios, como reacciones de eliminación y redistribución y una nueva degradación a pequeños fragmentos, los cuales a su vez se ionizan y dan patrones de descomposición característicos. La posición de la molécula-ion originaria del compuesto y los fragmentos de descomposición dan origen a un patrón en <huella dactilar> único para aquel compuesto. Estos patrones son almacenados en un ordenador, de forma que cuando se obtiene un patrón para un compuesto o grupo de compuestos desconocido, es comparado con los patrones almacenados para identificar el compuesto o compuestos de interés. (ver Figura 8 y 9.)^{24,25,26,27}

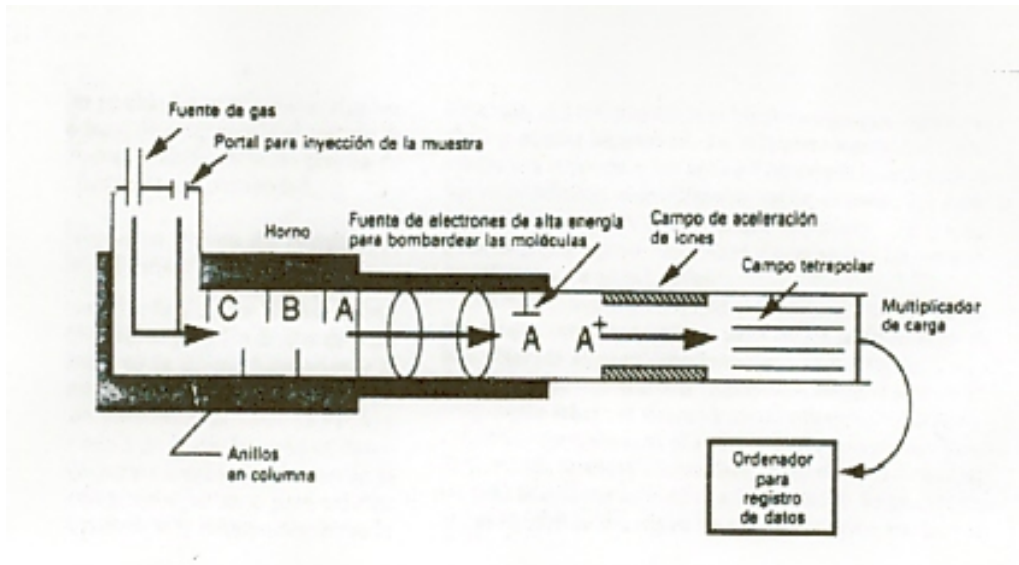


Figura 8. Esquema de los componentes de la instrumentación de la cromatografía de gases-espectroscopia de masas. (CG-EM).

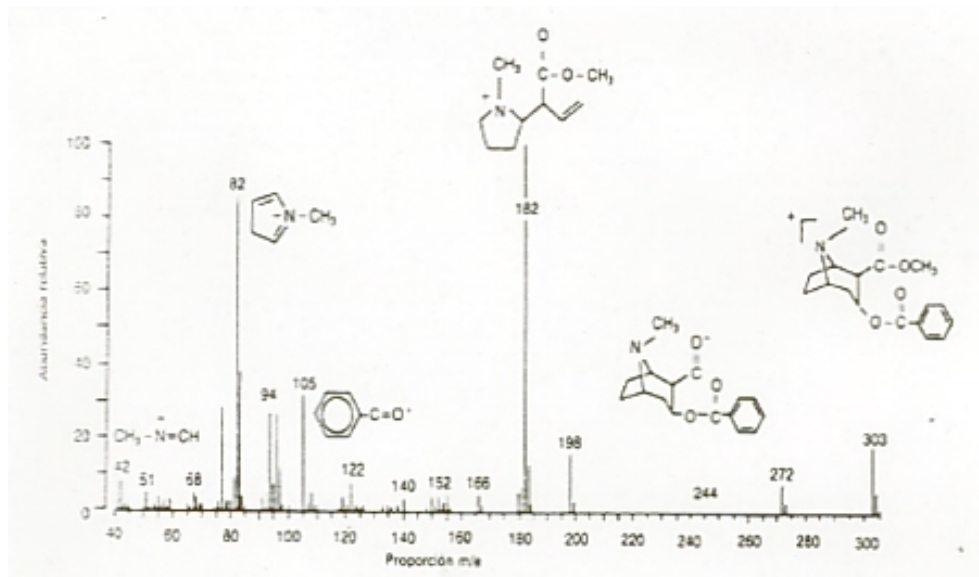


Figura 9. Cromatografía de gases-espectroscopia de masas. Picos característicos de los metabolitos de la cocaína.

ANALISIS DE RESULTADOS

Como se ha visto a lo largo de esta investigación la cocaína es una droga de fácil acceso al público en general incluyendo niños, jóvenes y adultos, así como mujeres embarazadas y en consecuencia al producto en gestación, en el cual se desencadenan varias situaciones, ya que al estar desarrollando en el vientre de la madre y al ser ésta consumidora de cocaína, la droga permanece más tiempo en el cuerpo del feto, inclusive puede haber una acumulación de la droga.

Se estudiaron 2 fluidos para la identificación de cocaína como son la orina y el meconio. La orina sirve para analizar la presencia de la droga tanto en la madre como en el recién nacido y las muestras de meconio para los fetos. La orina ha sido el espécimen más usado, pero depende de varios factores, la vía y la frecuencia de la ingesta, el intervalo y la cantidad de la última dosis.

La detección de los metabolitos de la droga en orina depende mucho del momento en que la madre tuvo su última ingesta. La abstinencia de la madre varios días antes del parto y la incapacidad de obtener una muestra de orina poco después de su nacimiento, contribuyen a los resultados falsos negativos. En cambio cuando se trabaja con muestras de meconio, los metabolitos de las drogas se encuentran fuertemente unidos a fragmentos celulares presentes impidiendo su difusión, lo que explica que haya altas concentraciones de metabolitos en comparación con la orina.

Además los metabolitos de la droga son medibles en orina por no más de 96 a 120 horas después del último uso de la cocaína en contraste con el meconio.

El meconio detecta 2.7 veces más casos positivos que en la orina. Por lo que las muestras de meconio son más confiables y disminuyen los falsos-negativos y falsos-positivos. Con la importancia de seguir métodos de identificación presuntivos así como métodos de confirmación.

CONCLUSIONES.

El estudio de muestras de meconio comparadas con muestras de orina demuestra que ofrecen un rango mayor para detectar los metabolitos de la cocaína, son más fáciles de recolectar y evitar su contaminación que las muestras de orina. Al trabajar con muestras de meconio se reducen los resultados falsos negativos, lo que conlleva a un tratamiento oportuno para reducir o llevar adecuadamente los daños causados a los bebés de madres consumidoras. El estudio en muestras de meconio ofrece un estudio alternativo al que por años se ha seguido como es el caso de muestras de orina y a pesar que el estudio es un poco más caro se ha utilizado con más frecuencia.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Hoekelman Robert A. Atención Primaria en Pediatría. Cuarta edición. Vol. I. Ediciones Harcourt. Mosby. Barcelona, España 2002. 280-285.
2. Celada Quezada R. La madre adicta a la cocaína y el producto de su embarazo. Revista Costarricense de ciencias médicas. Vol. 19, No. 3-4, Diciembre 1998.
3. Ostrea EM, Brady MJ, Parks PM, Asenio DC, Naluz A. Drug screening of meconium in infants of drug dependent mothers: an alternative to urine testing. The Journal of Pediatrics. Vol. 115, No. 3, September 1989. 474-477.
4. Lester BM, ElSohly MA, Wright LL, Smeriglio VL, Verter J, Bauer CR. et al . The maternal Lifestyle Study: Drug use by meconium toxicology and maternal self-report. Pediatrics, Vol. 107, No. 2, February 2001. 309-317.
5. Suárez Martínez B. Identificación de Cocaína como droga de abuso tanto en muestras decomisadas como en fluidos biológicos. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. 2003. 17-43.
6. Cruz, Cruz L. Detección del principal metabolito de cocaína (benzoilecgonina,) en orina mediante la técnica de inmunoensayo enzimático múltiple (EMIT) y cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/MS). Universidad del Valle de México. Escuela de Químico Farmacéutico Biólogo. Plantel Chapultepec. 2005
7. Rodríguez Weber, Miguel A. Neonatología Clínica. Mc GrawHill Interamericana. México. 2004. 55,56.
8. Stewort Taylor E. Obstetricia de Beck. Décima edición. Nueva Editorial Interamericana. México. 1981. 76.
9. Araiza Martha E., Pérez Gómez J, Orizaga Sampeiro J. Danforth. Tratado de Obstetricia y Ginecología. Octava edición. Mc GrawHill Interamericana. México. 2000. 140.
10. <http://es.wikipedia.org/wiki/Orina>
11. Ostrea EM, Romero AL, et al. Postmortem drug análisis of meconium in early-gestation human fetuses exposed to cocaine: Clinical implications. The Journal of Pediatrics, Vol. 124, No. 3, March 1994. 477-479.
12. Ostrea EM, Parks PM, Brady MJ. Papid Isolation and Detection of Drugs in Meconium of Infants of Drug-Dependent Mothers. Clinical Chemistry, Vol. 34, No. 11, 1988. 2372-2373.

13. Moore C, Lewis D, Leikin J. False-Positive and False-Negative rates in Meconium Drug Testing. *Clinical Chemistry*, Vol. 41, No. 11, 1995. 1614-1616.
14. www.cocaine.org
15. Velasco Martin A, Lorenzo Fernandez P, Serrano Molina J, Andres-Trelles F. Velásquez *Farmacología*. 16° ed. Interamericana McGraw-Hill. España. 1993. 513-514.
16. <http://www.mind-surf.net/drogas/cocaina.htm>
17. www.inchem.org/documents/pims/pim139
18. www.ff.up.pt
19. www.cee.vt.edu
20. www.cem.msu.edu/~reusch/VirtualText/Spectrpy/MassSpec/masspec1
21. www.pharm.uky.edu/HomeTest/Elisa/elisa.html
22. Parslow Tristram G, Stites Daniel P, Terr Abba I, Imboden John B. *Inmunología básica y clínica*. 10° ed. Editorial El Manual Moderno. México. 2002. 249-261
23. Nelson Douglas A, Lomer Russell J, Washington John A, Theatte Gregory A. *Diagnostico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio*. 9°ed. Ediciones Científicas y Técnicas. México. 1994. 60-65, 368-371, 887-895, 900-903
24. Skoog Douglas A, Leary James J. *Análisis instrumental*. McGraw-Hill. 4°ed. España. 1994. 491-498, 527-530, 674-691, 704-725.
25. Skoog Douglas A, West Donal M, Holler James F, Crouch Stanley R. *Fundamentos de Química Analítica*. 8° ed. División Iberoamericana Thomson. México. 2005. 881-883, 959-977
26. Willard Hobart H, Merritt Lynne L, Dean John A, Settle Frank A. *Métodos Instrumentales*. Compañía Editorial Continental S.A de C.V. México. 1988. 605-613
27. Gisbert Calabuig J.A. *Medicina Legal y Toxicologica*. 4° ed. Editorial Masson-Salvat. México. 592-602