

## **Drogas de abuso Parte I: Toxicología analítica de la cocaína**

### **Part I: Analytical toxicology of cocaine. Drugs of misuse**

Juan Francisco Sánchez Bruzón, Mario Granda Fraga [avlopez43@inder.cu](mailto:avlopez43@inder.cu)

#### **RESUMEN**

La cocaína es un alcaloide con una larga historia de uso y abuso. Su determinación de tanto en muestras no biológicas como en fluidos biológicos continua siendo una tarea de primer orden, la cual se lleva a cabo en la mayoría de los laboratorios de manera directa a través de una técnica inmunoanalítica o mediante la aplicación de un procedimiento de extracción líquido – líquido (ELL), extracción en fase sólida (EFS) o mediante una extracción con fluidos en estado supercrítico (EMFS), seguido de una técnica cromatográfica como por ejemplo la Cromatografía en Capa Delgada, la Cromatografía de Gases (CG) o la Cromatografía Líquida de Alta Presión. La CG acoplada a la espectrometría de masas (CG/EM) dada su elevada especificidad y sensibilidad es la técnica mediante la cual se obtiene la adecuada eficiencia para este tipo de estudio en lo que respecta fundamentalmente a fluidos biológicos. En el presente trabajo se revisaron los métodos de determinación de COC y sus principales metabolitos en muestras orina por CG, debido a que esta muestra constituye el fluido idóneo para este tipo de determinaciones, no solamente en el campo de la toxicología analítica y forense, sino también el al control antidopaje. No se incluyen en este trabajo los métodos utilizados por Cromatografía Líquida de Alta Presión, por dos razones, primero para no hacer demasiado extensa dicha revisión y debido a que podría constituir el objetivo de otro trabajo. Se resume detalladamente los métodos de aislamiento de dichos analitos en orina haciendo énfasis en los procedimientos de preparación de las muestras antes de ser sometidas a las extracciones. Se tabulan las principales condiciones cromatográficas (columna, programa de temperatura, método de detección), métodos de extracción, agentes derivatizantes, modo espectrométrico de detección. y la sensibilidad de dichos procedimientos. Esta revisión nos permite concluir que los métodos más usados para la determinación de COC y sus principales metabolitos en orina involucran después de los respectivos pasos de preparación de las muestras, una EFS seguida de un método por CG con columnas de sílice fundida capilar (HP-1, HP-5). La detección se lleva a cabo generalmente por EM mediante un monitoreo selectivo de iones (MSI), con el uso del impacto electrónico como método de ionización.

**Palabras Claves:** cocaína, cromatografía, toxicología.

## ABSTRACT

Cocaine is an alkaloid with a long history of use and abuse. Its determination in nobiological samples like in biological fluids continuous being a first-rate task, which takes effect in the majority of the laboratories of direct manner through an analytical-immune technique or by means of application of a procedure of liquid –liquid extraction( ELL), extraction in solid phase ( EFS ) or by means of an extraction with fluids in super-critic state( EMFS ), followed of a chromatographic technique, for example chromatography in thin layer, Chromatography of Gases ( CG ) or High-Pressure Liquid Chromatography. The CG coupled to Mass Spectrometry ( CG/EM ) cause its lofty specificity and sensibility is the intervening technique which gets the adequate efficiency for this type of study with regards to biological fluids fundamentally. In present work was checked the determination methods of COC and its principal metabolites in urine simples for CG. The principal chromatographic conditions are tabulated (column, temperature program, detection method), extraction methods, agents derivative, spectrometrical mode of detection and the sensibility of the in question procedures. This revision permits us concluding that the most used methods for the determination of COC and its principal metabolites in urine implicate after the respective steps of preparation of samples, an EFS followed by a method for CG with columns of fused capillary silica (HP-1, HP-5). The detection carries out generally by EM through a selective monitoring of ions (MSI), with the use of the electronic impact like method of ionization completion for intervening.

**Key words:** Cocaine, chromatographyc, toxicology

## INTRODUCCIÓN

La COC es el principal alcaloide que se obtiene de la planta *Eritroxilum coca*. Aunque generalizado el uso de las hojas en algunos países de la región Andina, hoy día la COC está asociada casi exclusivamente con el abuso del alcaloide<sup>1</sup>. Los efectos estimulantes de la COC así como sus propiedades anestésicas y vasoconstrictoras han sido objeto de numerosos estudios por parte de médicos y toxicólogos <sup>2, 3</sup>

La COC es además la sustancia psicoactiva de más amplia gama de posibilidades de consumo: puede ser inhalada, fumada, inyectada, bebida en infusiones, aplicada en las mucosas, y también puede mezclarse con otras drogas.<sup>4</sup> La misma se metaboliza rápidamente y la benzoilecgonina (BE) que es su principal metabolito es considerado como marcador del consumo de COC, no obstante, se han reportado adicionalmente otros 18 metabolitos en orina, de los cuales los más importantes son la Ecgonina Metil Ester (EME), Ecgonina (EG), Norcocaina (NORCOC) y el Cocaetileno (COCET), que se forma en presencia de etanol.<sup>5, 6, 7, 8</sup>

La elección por un laboratorio de una determinada metodología analítica va a depender de varios factores: volumen de trabajo, sensibilidad requerida, capacidad técnica e instrumental, tiempo disponible y costo. El diseño de un protocolo para la detección de una droga de abuso debe incluir dos pasos fundamentales: un procedimiento inicial de rastreo que sea capaz de diferenciar las muestras negativas de las presumiblemente positivas, seguido de otro procedimiento de confirmación, lo suficientemente sensible y específico para dar categóricamente positiva una muestra. En el primer caso se han aplicado técnicas de inmunoensayo y/o cromatográficas y en el segundo todas las técnicas suelen ser cromatográficas y espectrométricas.(9, 10, 11, 12, 13, 14)

La determinación de COC y sus principales metabolitos en fluidos biológicos se lleva a cabo en la mayoría de los laboratorios a través de inmunoensayos realizados de manera directa en la orina o mediante la aplicación de un procedimiento de extracción líquido – líquido (ELL) ó de extracción en fase sólida (EFS), seguido de la ejecución de una técnica cromatográfica como por ejemplo la Cromatografía en Capa Delgada, Cromatografía Líquida de Alta Presión (CLAP) y Cromatografía de Gases (CG). La CG/EM dada su elevada especificidad y sensibilidad es la técnica mediante la cual se obtiene la adecuada eficiencia para este tipo de estudio. Sin embargo, se han descrito varios métodos alternativos empleando cromatografía de gases con detector de nitrógeno – fósforo (CG/DNF), y por CLAP los cuales han permitido obtener resultados con la adecuada sensibilidad y selectividad para realizar un diagnóstico inequívoco. (15, 16)

El propósito fundamental de esta revisión es brindar en resumen de algunos de los métodos que han sido publicados en los últimos años utilizados para aislar y determinar COC y sus principales metabolitos en muestras de orina.

### **Extracciones a partir de muestras de orina**

La orina es la muestra que con mayor frecuencia es enviada a los laboratorios clínicos y toxicológicos para realizar un rastreo de drogas de abuso, debido a que como regla general las concentraciones de las drogas y sus metabolitos suelen estar entre 100 a 1000 veces mayores que en el suero.17, 18.

En la literatura de primer impacto de la especialidad se han publicado muchos trabajos relacionados con el diagnóstico del consumo de cocaína, y uno de los aspectos cruciales es la metodología de aislamiento de la cocaína y sus metabolitos en muestras de orina.

Sweeney W. y cols. confirmaron la presencia de BE en muestras de orina mediante una extracción aplicando un método de “salting-out”. Para esto prepararon una mezcla de 5 g de bicarbonato de Sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) y carbonato de potasio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) (2:1), adicionándose a 10 mL de orina, para luego realizar la extracción con una mezcla de cloroformo:isopropanol (1:0,05). La capa orgánica fue reextraída con 4 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 0,1N y después de un paso de purificación, se registró el espectro UV (235 nm). De esta forma estos autores pudieron detectar concentraciones de BE del orden de 1,25

Kg/mL.<sup>17</sup> Por su parte Soriano C. y cols. automatizaron el procesamiento de análisis de muestras de orina para la detección de más de 30 drogas de abuso, entre ellas la COC. Adicionaron 250 µL de orina en un vial conteniendo 100 mg de Cloruro de Sodio (NaCl), colocándose dicho vial en un sistema robotizado, realizándose una ELL con ter-butiletter en medio alcalino con difenilamina como estándar interno. Se aspiró automáticamente la capa orgánica y se inyectó en el cromatógrafo. Fue reportado un recobrado de 83.1% para la COC con un límite de detección de 0,3 µg/mL. En otro estudio utilizando ELL, Kints P. y cols aislaron COC y sus metabolitos de orina humana (1 mL + 2 mL de buffer pH 8,4) con cloroformo:isopropanol:n-heptano (50:17:33). Después de realizar un paso de purificación con ácido clorhídrico (HCl) 0,2M (5 mL), reextrajeron con cloroformo en medio alcalino. Además de la COC y sus metabolitos, estos autores pudieron aislar con éxito la anhidroecgonina metil ester (AEME) que es un producto de la pirólisis de la COC y su presencia siempre está relacionada con el consumo de COC fumada.

Por su parte, Levine B. y cols. estudiaron la estabilidad de la EME en muestras de orina procedentes de cadáveres, utilizando un protocolo de ELL con mepivacaina como estándar interno. Así, la orina (5 mL) fue alcalinizada y se extrajo con cloruro de n-butilo (21 mL), realizándose un paso de purificación con ácido diluido, reextrayéndose finalmente con diclorometano (5 mL).<sup>20, 21, 22</sup> En el Instituto de Medicina Legal de la Ciudad de la Habana para realizar el rastreo de cocaína y BE en muestras de orina por CCD se sigue un protocolo de ELL recomendado por el grupo de expertos de las Naciones Unidas para el Control de las Drogas. Esta técnica, que parte de 20 mL de orina alcalinizada a pH 8.6 hace dos extracciones sucesivas con cloroformo:isopropanol (1:1), sin pasos ulteriores de purificación y con muy buena recuperación para la BE.<sup>23</sup> Ramcharitar V. y cols. extrajeron BE y EME con BE trideuterada y mepivacina como estándares internos respectivamente, en procedimientos separados de ELL mediante los cuales se aisló la BE de la orina (5 mL) con cloroformo con 20% de etanol a pH 9.3 y la EME 21 mL de cloruro de n-butilo a pH alcalino, obteniéndose en ambos casos % de recuperación superiores al 90%.<sup>10</sup>

Sukbuntherng J. y Cols. combinaron una ELL con una EFS para extraer COC y sus metabolitos y en especial al COCET. Primeramente estos autores realizaron una extracción con acetato de etilo en medio alcalino con tropocaina como estándar interno y posteriormente la capa acuosa resultante se aplicó en columnas ODS C-18, las cuales fueron previamente acondicionadas (3 mL de metanol, 3 mL de buffer carbonato pH 9,1), realizándose un lavado con una mezcla de 3 mL agua:metanol (80:20).

La elución se realizó con 3 mL de metanol, de esta forma se reportó una recuperación superior al 91% para la COC, COCET y la BE.<sup>24</sup>

Utilizando un procedimiento atípico de aislamiento para la EG con columnas de intercambio aniónico AXS, Hombeck C.L. y cols. después de aplicar la orina en las columnas (1 mL) centrifugaron las mismas a 2000 r.p.m., realizando una elución por centrifugación y al eluato resultante se le añadió 0,5 mL de metanol y se concentró a sequedad, llevándose a cabo en los extractos los análisis correspondientes.<sup>25</sup>

Matssubara K. y cols. trabajando con columnas Extrelut (fase normal) y partiendo de 10 mL de orina ajustada a pH entre 7 y 9, con zeta(2H5)cocaína, (2H5)benzoilecgonina y lignocaína como estándares internos, lograron aislar con más del 80% de eficiencia a la COC, BE y EME, después de una elución con una mezcla de cloroformo: isopropanol (9:1).<sup>26</sup> Con columnas similares Chem-Elut Isenschmid y cols. partiendo de 2 mL de orina a pH 7 y con análogos deuterados como estándares internos, extrajeron simultáneamente COC, BE y EME realizando dos eluciones consecutivas con 8 mL cada una de cloroformo:isopropanol (9:1) con 5 min de intervalo entre cada elución. La EME la derivatizaron con 4-fluorobenzoilo en piridina y la BE con dimetilformamida (DMF) y N,N-Dimetilformamida dihidropropilacetal-(DMF-DPA). Los derivados se analizaron por CG/EM mediante un monitoreo selectivo de iones (MSI).<sup>27</sup> Con estas mismas columnas Chem-Elut Lillsunde P. y Korte T. eluyeron la COC y la BE con más del 70% de recobrado, utilizando diclorometano:isopropanol como solvente de elución (9:1), pero con la diferencia de que la BE presente en las muestras de orina la hicieron reaccionar antes de las extracciones con dimetilsulfato a pH 5,0 a 70 °C por 2 min, con el objetivo de llevar a cabo la reacción de metilación.<sup>9</sup> En otro estudio Ferrara S. D. y su equipo de trabajo extrajo BE de orina humana con una combinación de columnas Extrelut seguido de columnas Adsorbex-Diol (100mg).

Primeramente 3 mL de orina ajustada a pH 9 con una mezcla de NaHCO<sub>3</sub> y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2:1), fueron aplicadas a la columna extrelut y después de 10 min se realizó una elución con cloroformo con un 10% de isopropanol, concentrando el eluato resultante hasta 100 KL, aplicándose a las columnas Adsorbex-Diol después de dilución con diclorometano (5 mL). Estas columnas se activaron previamente con 2 mL de diclorometano y después de aplicar la muestra se lavó con 1 mL de este solvente y 4 mL de éter etílico. La elución se realizó con dos porciones de metanol de 500 KL cada una.<sup>28</sup>

Con columnas de tipo mixto Bond Elut Certify (BEC) las cuales en un mismo lecho presentan propiedades apolares y de intercambio catiónico fuerte Logan B. K. y cols. extrajeron 100 drogas básicas de orina humana, entre las que se encuentran la COC y su principal metabolito. Así, estas columnas previamente acondicionadas se les aplicó las muestras de orina, y con un paso previo de lavado (con ácido fosfórico 10mM, ácido acético 0,1M y metanol), se eluyó con metanol conteniendo un 3% de amoníaco. Mediante este procedimiento se reporta un recobrado absoluto para la COC y la BE de 98 y 94.2% respectivamente.<sup>29</sup>

Con este mismo tipo de columnas BEC De la Torre R. y cols. Aislaron simultáneamente COC, BE, EME, COCET y NORCOC con recobrados de 87, 83, 41, 93 y 98% respectivamente. Para esto, partieron de 2.5 mL de orina ajustada a pH 7 con buffer fosfato y la aplicaron a las columnas previamente acondicionadas y posteriormente a un paso de lavado, se eluyó con una mezcla de cloroformo:isopropanol (4:1) conteniendo un 2% de amoníaco. La determinación se realizó por CG/EM. Un procedimiento idéntico a este lo realizaron Fernández P. y cols., con la diferencia de que el amoníaco se adicionó al final de los pasos de lavado (3 mL), realizándose la elución

inmediatamente después con el mismo sistema de solvente y la determinación por CLAP. Ortuño y cols. extrajeron COC y BE con columnas similares y llevando a cabo un procedimiento análogo al ejecutado por De la Torre con la diferencia de que este último utilizó los estándares internos deuterados y el primero, levallorfan. Los análisis se realizaron por CG/DNF y los recobrados fueron superiores al 90%.<sup>30, 31, 32</sup> Otra variante utilizada con estas mismas columnas BEC fue puesta en práctica por Chen X. y cols., en este caso realizando dos eluciones sucesivas con diferentes sistemas de solventes. Estos autores tomaron 1 mL de orina diluida con 4 mL de buffer de pH 6 aplicándolas a dichas columnas previamente acondicionadas y luego de alternativos pasos de lavado y secado se efectuó la primera elución con 4 mL de acetona:cloroformo (1:1), la segunda se realizó con acetato de etilo con un 2% de amoniacó. Los resultados reportados también fueron similares a los de autores anteriores.<sup>33</sup>

Con iguales columnas Clauwaert K.M. y cols. recientemente extrajeron COC, BE y COCET de muestras de orina utilizando dos estándares internos (2'-metilbenzoilecgonina y 2'-metilcocaina). Estos autores diluyeron la orina (2 mL) con 2 mL de buffer fosfato (pH 6) y 100 KL de los estándares internos. Las muestras se aplicaron a las columnas previamente activadas con metanol y buffer fosfato y el lavado se realizó con agua, ácido clorhídrico 0,1M, metanol y acetonitrilo (siempre con 3 mL, excepto los dos últimos lavados que fueron con 3 x3 mL). La elución se efectuó con 2 mL de una mezcla de cloruro de metileno:isopropanol:amoniacó 25% (80:20:2). Los extractos fueron analizados por un método de CLAP y los recobrados reportados fueron de 95, 89 y 88% para la BE, COC y COCET respectivamente.<sup>34</sup>

Nishikawa M. y cols. extrajeron simultáneamente COC, BE, EME, EG y NORCOC de muestras de orina con una combinación de dos columnas de EFS (BEC y Bond SCX). Primeramente aplicaron 1 mL de orina diluida con 1 mL de buffer fosfato en columnas BEC previamente activadas y después de los respectivos pasos de lavado y elución, el eluato resultante se diluyó con sendos mL de buffer fosfato y Etilendiaminotetraacetato de sodio (Na<sub>2</sub>EDTA) 0,1% , aplicándose esta mezcla en la columna Bond SCX. La elución se efectuó en ambas columnas con metanol en amoniacó al 3%, reportándose recobrados entre 40 y 95%. Las determinaciones se realizaron por CLAP/EM.<sup>35</sup>

Jenkins A. J. y col. recientemente cuantificaron simultáneamente COC y nueve metabolitos en sangre y orina, procedentes de 13 fallecidos sospechosos de sobredosis. Para esto utilizaron columnas Clean Screen<sup>®</sup> que activaron primero con el solvente de elución, seguido de metanol y agua desionizada. Después de aplicadas las muestras (mezcladas con acetato de sodio y los estándares internos deuterados), se efectuó un lavado con agua desionizada, HCl 0,1M y metanol. Los analitos se eluyeron con cloruro de metileno:isopropanol:ammoniacó (80:20:2).

De esta forma cuantificaron a la COC, BE, EME, COCET, NORCOC, norbenzoilecgonina (NORBE), norcocaetileno (NORCOCET), ecgoniina etil ester (EEE) y AEME, pero no reportaron % de recuperación para ningún analito. Este es el primer reporte de determinación de los últimos 5 metabolitos en fluidos biológicos, y se efectuó con un límite de detección entre 3 y 6 ng/mL por GC/EM.<sup>36</sup>

Dubey I. S. y Caplan Y.H. estudiaron el recobrado y la estabilidad de la BE en muestras de orina conservadas como manchas secas en papeles de filtro Whatman número 3 a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  y a temperatura ambiente durante 12 semanas. Después de un procedimiento de elución se utilizaron columnas BEC para realizar las extracciones finales, con metodologías muy similares a las descritas anteriormente.

De esta manera estos autores demostraron la efectividad de la conservación como manchas secas en papeles de filtro, independientemente de la temperatura.<sup>37</sup>

Dugan S. y cols. extrajeron COC y BE de 236 muestras de orina después de 1 año de conservadas a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , con el objetivo de estudiar la estabilidad de dichos analitos. El protocolo de extracción realizado involucró dos tipos diferentes de columnas de EFS: las Clean Screen DAU y las de tipo W Prep.

Con las primeras una vez acondicionadas con metanol, agua desionizada y buffer fosfato de pH 5,5, se aplicaron 2 mL de orina buffereada a pH 5,5 y después de lavar con agua, ácido clorhídrico 0,1N y metanol, se eluyó con 3 mL de cloruro de metileno:isopropanol (80:20) conteniendo un 2% de amoniaco. Con las "W Prep" (fase normal), estos autores aplicaron las muestras de orina (2 mL), buffereada a pH 9,5, eluyéndose posteriormente con agua desionizada y una mezcla de cloruro de metileno:isopropanol (9:1). Las extracciones fueron cuantitativas, demostrándose la estabilidad de los analitos en esas condiciones de conservación. A esta misma conclusión llegaron Hippenstiel M.J. y Gerson B. después de realizar una revisión del tema reportaron que las mejores condiciones de conservación de la COC y sus metabolitos en orina son a  $-15^{\circ}\text{C}$  y ajustada a pH 5 preferiblemente con ácido ascórbico y en frascos no silanizados.<sup>38, 39</sup>

Kumazawa T. y cols. fueron los primeros en reportar el uso de la MEFS para aislar COC de orina humana. Para lograrlo utilizaron 0,5 mL de orina con cocapropileno como estándar interno permitiendo el contacto con la fibra de polidimetilsiloxano (100 Km) durante 30 min, realizando la desorción térmica a  $240\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 3 min.

La determinación en los extractos finales se realizó por CG/DNF. El recobrado fue superior al 20% y el límite de detección de 3 ng/mL de orina. Casi al mismo tiempo Singer K. y cols. utilizando las mismas fibras pero de dos medidas diferentes (100 y 85 Km) estudiaron la extracción de algunas drogas de abuso, realizando el proceso de absorción a 40°C, pero no reportaron buenos resultados para la COC y opiáceos. Parece ser que este tipo de extracción en fase sólida no ha tenido mucho éxito, sobre todo para la extracción simultánea de la COC y sus metabolitos a partir de orina.<sup>16</sup>

### **Análisis de Cocaína y sus Metabolitos por Cromatografía Gas – Líquido**

En la tabla I aparece un resumen de algunos de los métodos reportados para el análisis de COC y sus metabolitos por CG en muestras de orina.

Como puede apreciarse la mayoría de los métodos de análisis simultáneo de COC y sus metabolitos por CG, utilizan columnas capilares de sílice fundida (metil silicona ó fenilmetil silicona), con He como gas portador, empleando un programa de temperatura que generalmente comienza por debajo de los 100°C y que llega hasta alrededor de los 280°C en la mayoría de los reportes. Las reacciones de derivatización más empleadas son la preparación de los fluoropropioderivados y los trimetilsilil derivados, empleando la espectrometría de masas en cualquiera de sus variantes como método de detección.

### **CONCLUSIONES**

La mayoría de los métodos que se han reportado en los últimos 10 años para la determinación de COC y sus principales metabolitos en fluidos biológicos involucran procedimientos de EFS seguido de una técnica de cromatografía capilar con fases de tipo HP-1 y HP-5, utilizando la EM como método de detección en el modo MSI y con IE como modo de ionización. El presente trabajo hace referencia solamente a los procedimientos reportados para el análisis de COC y sus metabolitos en muestras de orina y constituye una recopilación de datos mas completa que se ha realizado en los últimos años sobre el tema, lo cual es de importancia crucial para los científicos que se ocupan del diagnostico de esta droga en el campo de la toxicología analítica, forense y el análisis antidoping en general.

**Tabla 1.** Análisis de cocaína y sus metabolitos en muestras de orina por Cromatografía Gas – Líquido.

Referencia.	Analitos	Modo de Extracción	Agente derivatizante	Estándar Interno	Columna
Peterson K.L. y cols. <sup>40</sup>	COC, EME, BE, EG	EPS	DZ	-	Tipo HP-5 30 m x 0,2 mm x 0,33 µm
Bermejo B.A.H y col. <sup>41</sup>	COC, BE	"toxi tube A"	BSTFA	Proadifen	HP-5 12 m x 0,32 mm x 0,25 µm
Aderjan R. E. y cols. <sup>42</sup>	COC, BE	EPS	APFP	-	CP-SIL (tipo HP-1) 12 m x 0,25 mm x 0,33 µm
Isenschmid D.S. y cols. <sup>43</sup>	COC, BE, EME	Chem-Elut	DMF/DPA	Análogos deuterados	HP-1 12 m x 0,32 x 0,25 µm
Matzubara K. y cols. <sup>38</sup>	COC, BE, EME	Extrelut	DMF/DPA	Análogos deuterados	OV-17 3% en gas-chrom Q 2 m x 3 mm
Cárdenas S. y cols. <sup>44</sup>	COC, BE, EME	EPS	BSA	-	DB-5 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
Ramcharita V. Y cols. <sup>40</sup>	BE, EME	ELL	IB	Análogos deuterados Mepivacain	HP-5 25 m x 0,32 mm x 0,17 µm
De la Torre y cols. <sup>30</sup>	COC, BE, EME, COCET	EPS	APFP	Análogos deuterados	Tipo HP-5 25 m x 0,2 mm x 0,33 µm
Wang L y cols. <sup>45</sup>	COC, BE	EPS	BSTFA	-	HP-1 12 m x 0,2 mm x 0,33 µm

**Tabla 2.** Análisis de cocaína y sus principales metabolitos en orina por Cromatografía Gas – Líquido.

Referencia.	Programa de temperatura	Modo de Detección	Gas Portador	Límite de Detección
Peterson K.L y cols. <sup>40</sup>	100°C 13°C/min - 295°C - 7 min.	EM IE MSI	He 1 mL/min	0,5 µg/mL
Bermejo B.A.M y col. <sup>41</sup>	130°C - 1 min. 12°C/min - 280°C - 5 min.	EM IE MSI	He 1 mL/min	-
Aderjan R. E. y cols. <sup>42</sup>	170°C - 1 min. 20°C/min - 290°C-1 min.	EM IE MSI	He 1 mL/min	COC- 20 ng/mL BE- 40 ng/mL
Isenschmid D.S. y cols. <sup>43</sup>	100°C 30°C/min - 250°C	EM IE MSI	He 1 mL/min	-
Matzubara K. y cols. <sup>26</sup>	270°C - (COC, BE) 200°C 8°C/min - 250°C (EME)	EM MSI IQ (180 ev)	He 1 mL/min	BE, COC-1 ng/mL EME- 10 ng/mL
Cárdenas S. y cols. <sup>44</sup>	100°C - 1 min 12°C/min - 310°C	EM -MSI (IE 70ev)	He 0,8 mL/min	COC- 1ng/mL BE- 20 ng/mL EME- 200 ng/mL
Ramcharita V. Y cols. <sup>10</sup>	260°C BE 100°C - 1min. 10°C/min - 260°C 20°C/min - 300°C - 8 min.	EM -IE-MSI- BE DSNF- EME	He 1 mL/min	-
De la Torre y cols. <sup>30</sup>	100°C 20°C/min - 200°C 3°C/min - 240°C 20°C/min - 278°C	EM MSI IE	He 0,65 mL/min	1-2 µg/mL
Wang L y cols. <sup>45</sup>	70°C - 1 min. 35°C/min -220°C- 0,25min. 10°C/min - 250°C - 3min.	EM IE MSI	He 1 mL/min	5 ng/mL en orina 0,5 ng/mL en pelos

**Tabla 3:** Análisis de cocaína y sus principales metabolitos en orina por Cromatografía Gas – Líquido.

Ref.	Analitos	Modo de extracción	Agente Derivatizante	Estándar Interno	Columna
Kintz P. y cols. <sup>21</sup>	COC, BE, EME, COCET	ELL	BSTFA	Análogos deuterados	HP-5 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
Croughch D J y cols. <sup>46</sup>	COC, BE, EME	EPS C18	MSTFA	Análogos deuterados	DB-5 15 m x 0,32 mm x 1 µm
De Giovanni y cols. <sup>47</sup>	COC, BE, EME	EPS C18	BSTFA	Análogos deuterados	HP-1 12 m x 0,2 mm x 0,33 µm
Cone E J y cols. <sup>48</sup>	COC, BE, EME	EPS	BSTFA	Análogos deuterados	Metilsilicona 12 m x 0,2 mm x 0,33 µm
Zhang J. y col. <sup>49</sup>		ELL	APFP y HFP	-	DB-1 15 m x 0,25 mm x 0,33 µm
United Nation. <sup>23</sup>	COC, BE	ELL EPS BEC	MSTFA MSTBSTFA	Etilmorfina nalorfina	Metilsilicona 25 m x 0,32 mm x 0,15 µm
Kumazawa T. y cols. <sup>36</sup>	COC, BE	Micro EPS	-	Coca propileno	DB-1 30 m x 0,32 mm x 0,25 µm
Soriano C. y cols. <sup>20</sup>	COC	ELL	-	difenilamina	5% fenil Metilsilicona 12 m x 0,2 mm x 0,33 µm
Verebey K. y col. <sup>17</sup>	BE	ELL	APFP y PFPOL	nalorfina	DB-1 15 m x 0,20 mm x 0,25 µm
Paul D. B. y cols. <sup>20</sup>	BE	EPS	DMF-DPA	-	DB-5 15 m x 0,25 mm x 0,25 µm

**Tabla 4.** Análisis de cocaína y sus principales metabolitos en orina por Cromatografía Gas – Líquido.

Ref.	Programa de temperatura	Modo de Detección	Gas Portador	Límite de Detección
Kintz P. y cols. <sup>21</sup>	60°C 30°C/min-290°C-5 min.	EM EI (70 ev) MSI	He 1 mL/min	-
Crough D J y cols. <sup>46</sup>	115°C - 1.5 min. 20°C/min-280°C -1 min.	EM (IQ) MSI	He 1. mL/min	-
De Giovanni y cols. <sup>47</sup>	120°C -1 min 20°C/min-220°C - 1 min 5 °C/min - 260°C 20°C/min-280°C- 2 min	EM IQ MSI	He 1 mL/min	50 ng/mL
Cone E J y cols. <sup>48</sup>	70°C 220°C-15 seg. 33°C/min-250°C-15seg. 3.5°C/min-260°C-5seg.	EM IE MSI	He 0,8 mL/min	1-6 µg/mL
Zhang J. y col. <sup>49</sup>	100°C - 30 seg. 10°C/min - 250°C	EM IE MSI	He 60 cm/seg	-
United Nation. <sup>23</sup>	150°C 9°C/min - 280°C	Ionización de Llama DNF	He 2 mL/min	-
Kumazawa T. y cols. <sup>26</sup>	120°C 10°C/min - 280°C	DNF	He 3 mL/min	3 ng/mL
Soriano C. y cols. <sup>20</sup>	90°C 10°C/min - 180°C 30°C/min -300°C-5min.	DNF Ionización de Llama	He 0,8 mL/min	0,5 µg/mL
Verebey K. y col. <sup>27</sup>	190°C - 0,7min. 30°C/min - 220°C	DNF	He 1,5 mL/min.	1 µg/mL
Paul D. B. Y cols <sup>20</sup>	180°C - 1min. 30°C/min-270°C - 2min. 40°C/min -320°C - 1min.	EM (IE) MSI	He 1,3 mL/min.	10 ng/mL

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Renzo A.A. Coca, cocaína: su historia, producción y consumo. **Rev. Prev. Salud Soc.**, **3**, 4, 1990.
- 2- Ferrara S.D. Il Laboratorio di Farmacologia e Tossicologia clinica. Capitolo 15. Stupefacenti. CG. De. Med. Scient. Torino, p-41, 1989.
- 3- Patrinely J.R., Cruz O.A., Reyna G.S., and King J.W. The use of Cocaine as an Anesthetic in Lacrimal Surgery. **J. Anal. Toxicol.**, **18**, 54, 1994.
- 4- Pérez A.G. Cocaína, surgimiento y evolución de un mito. Catálogo Científico, p-50 Colombia. 1987.
- 5- Zhang J.Y. and Foltz R.L. Cocaine metabolism in man: identification of four previously unreported cocaine metabolites in human urine. **J. Anal. Toxicol.**, **14**, 201, 1990.
- 6- Cone E.J., Tsadik A., Oyler J., and Darwin W.D. Cocaine metabolism and urinary excretion after different routes of administration. **Ther. Drug Monit.**, **20**, 556, 1998.
- 7- Karlix J. and Bertholf R.L. Detection of cocaine and its metabolites in amniotic fluid and umbilical cord tissue. **J. Anal. Toxicol.**, **21**, 97, 1997.
- 8- Jenkins A.J. and Goldberger B.A. Identification of unique cocaine metabolites and smoking by-products in post-mortem blood and urine specimens. **J. Forensic Sci.**, **42**, 824, 1997.
- 9- Lillsunde P. and Korte T. Comprehensive drug screening in urine using Solid-Phase Extraction and combined TLC and GC/MS identification. **J. Anal. Toxicol.**, **15**, 71 1991.
- 10- Ramcharitar V., Levine B., Smialek J.E. Benzoyllecgonine and ecgonine methyl ester concentrations in urine specimens. **J. Forensic. Sci.**, **40**, 99 1995.
- 11- Katagi M., Nishioka H., Nakajima K., Tsuchihashi H. Analysis of abused drugs in humans urine with commercial enzyme immunoassay reagents. **Jpn. J. Toxicol. Environ. Health**, **42**, 159, 1996.
- 12- Drummwer O.H., Horomidis S., Kourtis S., Syrjanen M.L., Tippett P. Capillary gas-chromatographic drug screen for use in forensic toxicology. **J. Anal. Toxicol.**, **18**, 134 1994.
- 13- Cone E.J. and Mitchell J. Validity testing of commercial urine cocaine metabolite assays: II. Sensitivity, specificity, accuracy and confirmation by gas chromatography/mass spectrometry. **J. Forensic Sci.**, **34**, 32, 1989.

14- Weinmann W. and Svodoba M. Fast screening for drugs of abuse by solid phase extraction combined with flow – injection inospray tandem mass spectrometry. **J. Anal. Toxicol.**, **22**, 319, 1998.

15- Verebey K. and DePace A. Rapid confirmation of enzyme multiplied immunoassay technique (EMIT<sup>®</sup>) cocaine positive urine samples capillary gas-liquid chromatography/nitrogen phosphorus detection. (GLC/NPD). **J. Forensic Sci.**, **34**, 46, 1989.

16- Kumazawa T., Watanabe K., Sato K., Seno H., Ishii A., Suzuki O. Detection of cocaine in human urine by solid phase microextraction and capillary gas chromatography with Nitrogen-Phosphorus detection. **Jpn. J. Forensic Toxicol.**, **13**, 207, 1995.

17- Verebey K. Laboratory methodology for drug and alcohol addiction. Comprehensive handbook of drug and alcohol addiction. Ed., Marcel DEKKER, inc. New York. 809-824, 1991.

18- Puchades Q.A., Magallon I.E., del Baño M.J.P., Cañigral B.F.J., Noguera, S.B. Evaluación de los controles de orina de centros asistenciales y rehabilitación del programa municipal de drogodependencias. **Rev. Esp. Drogodep.**, **19**, 245 1994.

19- Penton Z. Sample preparation for gas chromatography with Solid Phase Extraction and Solid Phase Microextraction. **Adv. Chrom.**, **37**, 205 1996.

20- Soriano C., Guerra J. M., Carreras D., Rodríguez C., Rodríguez A. F., Cortés R. Automated analysis of drugs in urine. **J. Chromat. B**, **687**, 183, 1996.

21- Kintz P., Cirimele V., Sengler C., Mangin P. Testing human hair and urine for anhydroecgoninemethyl ester, a pyrolysis product of cocaine. **J. Anal. Toxicol.**, **19**, 479, 1995.

22- Levine B., Ramcharitar V., Smialek J.E. Stability of ecgonine methyl ester in post-mortem urine specimens. **J. Forensic Sci.**, **41**, 126, 1996.

23- United Nation International Drug Control Programme. Recommended methods for the detection and assay of Heroin, cannabinoids, cocaine, amphetamine, methamphetamines and ring – substituted amphetamines derivatives in biological specimens, ST/NAR/27, Ed United Nation, New York., 5-14, 1995.

24- Sukbuntherng J., Walters A., Chow H. and Mayersohn M. Quantitative determination of cocaine, cocaethylene (ethylcocaine), and metabolites in plasma and urine by high – Performance Liquid Chromatography. **J. Pharm. Sci.**, **84**, 799, 1995.

25- Hombeck C.L., Barton K.M., Czarny R.J. Urine concentrations of ecgonine from specimens with low levels using a new ecgonine assay. **J. Anal. Toxicol.**, **19**, 133, 1995.

- 26- Matsubara K., Maseda C., Fukui Y. Quantitation of cocaine, benzoilecgonine and ecgonine methyl ester by g.d. – chemical ionization (m.s) – selected-ion monitoring after Extrelut extraction. **Forensic Sci. Int.**, **26**, 181, 1984.
- 27- Isenschmid D., Levine B.S., Caplan Y.H. Method for the simultaneous determination of cocaine, benzoilecgonine and ecgonine methyl ester in blood and urine using GC – EIMS with derivatization to produce high – mass molecular ions. **J. Anal. Toxicol.**, **12**, 242, 1988.
- 28- Ferrara S.D., Tedeschi L., Frison G., Castagna F. Solid Phase Extraction and HPLC-UV confirmation of drugs of abuse in urine. **J. Anal. Toxicol.**, **16**, 217, 1992.
- 29- Logan B.K., Stanfford. D. T. Tebbett. T. R., Moore. C. M. Rapad screening for 100 basic drugs and metabolites in urine using cation exchange Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography with diode array detection. **J. Anal. Toxicol.**, **14**:154-159 (1990).
- 30- De la Torre R., Ortuño J., González M. L., Farre M., Cami J. and Segura J. Determination of cocaine and its metabolites in human urine by gas chromatography-mass spectrometry after simultaneous use of cocaine and ethanol. **J. PH arm. Biomed. Anal.**, **13**, 305, 1995.
- 31- Fernández P., La fuente N., Bermejo A. M., López-Rivadula M., Cruz A. HPLC determination of cocaine and benzoilecgonine in plasma and urine from abusers. **J. Anal. Toxicol.**, **20**, 224, 1996.
- 32- Ortuño J., De la Torre R., Segura J., Cami J. Simultaneous detection in urine and its metabolites. **J. PH arm. Biomed. Anal.**, **8**, 911, 1990.
- 33- Chen X., Franke J.P., Wijsbeen J., and de Zeeuw R.A. Determination of basic drugs extracted from biological matrices by means of Solid Phase Extraction and Wide-Bore capillary gas chromatography with Nitrogen – Phosphorus detection. **J. Anal. Toxicol.**, **18**, 150, 1994.
- 34- Clauwaert K.M., Van Bocxlaer J.F., Lambert W.E., and De Leenheer A.D. Analysis of cocaine, benzoilecgonine and cocaethylene in urine by HPLC with diode array detection. **Anal. Chem.**, **68**, 3021, 1996.
- 35- Nishhikawa M., Nakajima K., Tatsunno M., Kasuya F., Igarashi K., et at. Analysis of cocaine and its metabolites by liquid chromatographyatmospheric-pressure chemical-ionization-mass spectrometry (LC-APCI-MS).**Forensic Sci. Int.**, **6**, 149, 1994.
- 36- Jenkins A.J. and Goldberger B.A. Identification of unique cocaine metabolites and smoking by-products in post-mortem blood and urine specimens. **J. Forensic Sci.**, **42**, 824, 1997.

- 37- DuBey I.S., and Caplan Y.H. The storage of forensic urine drug specimens as dry stains: recovery and stability. **J. Forensic Sci.**, **41**, 845, 1996.
- 38- Dugan S., Bogema S., Schwartz R.W. and Lappas N.T. Stability of drugs of abuse in urine samples stored at -20°C. **J. Anal. Toxicol.**, **18**, 391, 1994.
- 39- Hippenstiel M.J., and Gerson B. Optimization of storage conditions for cocaine and benzoylecgonine in urine. A review. **J. Anal. Toxicol.**, **1**, 104, 1994.
- 40- Peterson K.L., Logan B.K., Christian G.D. Detection of cocaine and its polar transformation products and metabolites in human urine. **Forensic Sci. Int.**, **73**, 183, 1995.
- 41- Bermejo-Barrera A.M., Stranno-Rossi S. Hair and urine analysis: relative distribution of drugs and their metabolites. **Forensic Sci. Int.**, **70**, 203, 1995.
- 42- Aderjan R.E., Schmitt G., Wu M., Meyer C. Determination of cocaine and benzoylecgonine by derivatization with iodometaneD3 or PFPA-HFIP in human blood and urine using GC\_MS (EI or PCI mode). **J. Anal. Toxicol.**, **17**, 51, 1993.
- 43- Isenschmid D.S., Levine B.S., Caplan Y.H. Method for the simultaneous determination of cocaine, benzoilecgonine and ecgonine methyl ester in blood and urine using GC – EIMS with derivatization to produce high – mass molecular ions. **J. Anal. Toxicol.**, **12**, 242, 1988.
- 44- Cárdenas S., Gallego M., Valcarcel M. An automated preconcentration derivatization system for the determination of cocaine and its metabolites in urine and illicit cocaine samples by gas chromatography-mass spectrometry. **Rapid Commu -Mass Spectrom.**, **10**, 631, 1996.
- 45- Wang L., Darwinn W.D., Cone E.J. Simultaneous assay of cocaine, heroin and metabolites in hair, plasma, saliva and urine by gas chromatography-mass spectrometry. **J. Chromatogr. B**, **660**, 279, 1994.
- 46- Crouch D.J., Alburges M.E., Spanbauer A.C., Rollins D.E., Moody D.E., Chasin A.A. Analysis of cocaine and its metabolites from biological specimens using solid phase extraction and positive ion chemical ionization mass spectrometry. **J. Anal. Toxicol.**, **19**, 352, 1995.
- 47- De Giovanni N., Strano Rossi S. Simultaneous extraction of cocaine and heroin metabolites in urine by solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **J. Chromatogr. B**, **658**, 69, 1994.
- 48- Cone E.J., Hillsgrove M., Darwin W.D. Simultaneous measurement of cocaine, cocaethylene, their metabolites, and “crack” pyrolysis product by gas chromatography – mass spectrometry. **Clin. Chem. (winston-Salem, NC)**, **40**, 1299, 1994.

49- Zhang J.Y., Faltk R.L. Cocaine metabolism in man: identification of four previously unreported cocaine metabolites in human urine. **J. Anal. Toxicol.**, **14**, 201, 1990.

50- Paul B.D., Dreka C., Summers J.L., Smith M.L. One-step esterification of benzoylecgonine with dimethylformamide-dipropylacetal or dimethylformamide-di-isopropylacetal in the presence of pyridine. **J. Anal. Toxicol.**, **20**, 506, 1996.