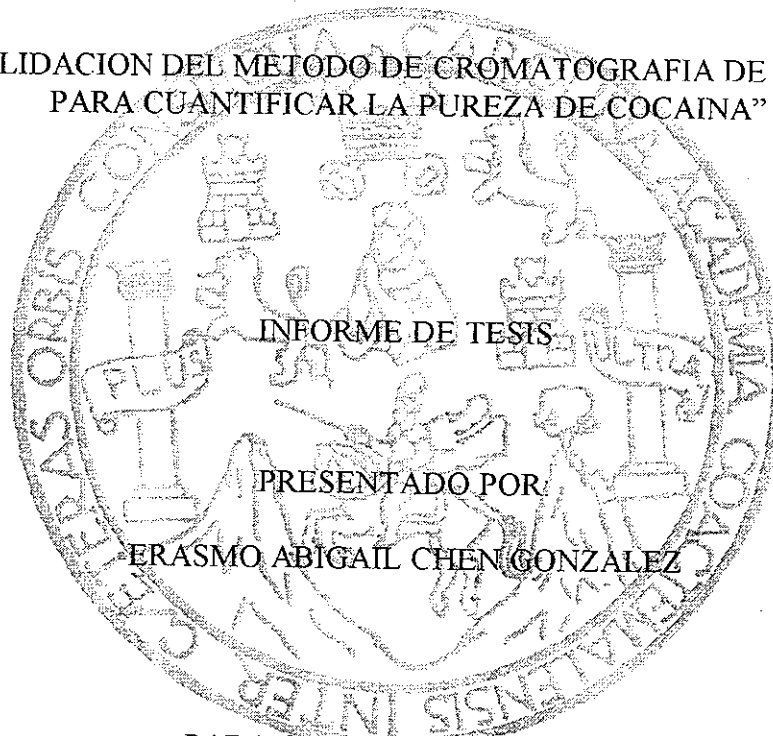


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

“VALIDACION DEL METODO DE CROMATOGRAFIA DE GASES
PARA CUANTIFICAR LA PUREZA DE COCAINA”



INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

ERASMO ABIGAIL CHEN GONZALEZ

PARA OPTAR EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO

GUATEMALA NOVIEMBRE DE 1999.

JUNTA DIRECTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANA	LICDA. HADA MARIETA ALVARADO BETETA
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	DR. OSCAR MANUEL COBAR PINTO
VOCAL II	DR. RUBEN DARIEL VELASQUEZ MIRANDA
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. DAVID ESTUARDO DELGADO GONZALEZ
VOCAL V	BR. ESTUARDO SOLORZANO LEMUS

DEDICATORIA

A DIOS: SER SUPREMO, QUIEN HA GUIADO MIS PASOS, PERMITIENDOME
ALCANZAR ESTE TRIUNFO, A QUIEN MANIFIESTO GRATITUD Y
ALABANZA.

A MIS PADRES: SANTIAGO CHEN Y JUANA GONZALEZ, CON MUCHO RESPETO EL
TRIUNFO ES PARA USTEDES.

A MIS HERMANOS: MIGUEL, GLORIA, JORJE, ENMA, ZOILA, SANDRA E INGRID, POR
EL APOYO INCONDICIONAL BRINDADO EN TODO MOMENTO.

A **JAIME** CON ESPECIAL AGRADECIMIENTO POR SU PACIENCIA Y ESTIMULO.

A MIS AMIGOS POR SER PARTE DE GRATOS MOMENTOS EN LOS AÑOS DE ESTUDIO.

A MIS SOBRINOS ESPECIALMENTE A **JHONATAN JOSE DANIEL**, QUE ESTE
TRIUNFO LES SIRVA DE EJEMPLO PARA SER CADA DIA MEJORES.

A MIS CUÑADOS, POR SER PARTE IMPORTANTE EN MI FAMILIA.

A LAS FAMILIAS: SAM COLOP, CHEN TURCKEIM, HERRERA WONG, JUAREZ CHEN, POR
LA AMISTAD BRINDADA.

A MI QUERIDO PUEBLO RABINAL ACHI.

AGRADECIMIENTO

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, EN ESPECIAL A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA.

A MI ASESORA LICDA. MIRIAM DOLORES OVALLE GUTIERREZ DE MONROY, POR SUS SABIAS ENSEÑANZAS, ASESORIA, PACIENCIA Y AMISTAD.

A LICENCIADO LUIS FERNANDO GIRON Y LECECIADA LUCRECIA PERALTA DE MADRIZ POR SUS OPORTUNAS OBSERVACIONES EN LA CORRECCION DEL PRESENTE TRABAJO.

AL PERSONAL DE EL LABORATORIO QUIMICO/SECCION DE SUSTANCIAS CONTROLADAS DEL MINISTERIO PUBLICO POR LA COLABORACION EN LA REALIZACION DE ESTA INVESATIGACION.

AL PERSONAL DE EL HOSPITAL NACIONAL DE EL PROGRESO, GUASTATOYA, POR LA AMISTAD BRINDADA.

AL PROGRAMA DE ACCESIBILIDAD DE MEDICAMENTOS -PROAM- ESPECIALMENTE AL DEPARTAMENTO DE SUPERVISION Y PROMOCION.

A MIS PADRINOS: DOCTORA BERTA SAM Y LICENCIADO HENRY SALGUERO.

INDICE

	PAGINA
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
3. ANTECEDENTES	5
4. JUSTIFICACION	7
5. OBJETIVOS	9
6. HIPOTESIS	10
7. MATERIALES Y METODOS	11
8. RESULTADOS	17
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	25
10. CONCLUSIONES	28
11. RECOMENDACIONES	29
12. REFERENCIAS	30
13. ANEXOS	33

1. RESUMEN

Las buenas prácticas de Laboratorio y las Buenas Prácticas de Manufactura requieren que los métodos de análisis sean validados con el fin de verificar que el sistema es capaz de identificar y cuantificar sustancias en los límites indicados en las especificaciones del mismo (7).

Uno de los sistemas de detección más sofisticados tanto para el análisis cualitativo como para el cuantitativo es la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, en el cual los componentes se fragmentan mediante un haz de electrones, estas partículas fragmentadas cargadas se aceleran o dirigen al centro del espectro de masas, estos iones pueden separarse de acuerdo al radio de la carga de masas y posteriormente ser identificados con patrones característicos de fragmentación. Además la identificación de las moléculas se simplifica mediante la computarización de espectros a una biblioteca integrada en la memoria (Software) de la computadora del sistema cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

El presente trabajo se realizó, con el propósito de demostrar que el método de cromatografía de gases propuesto en el mismo para cuantificar la pureza de la cocaína cumple con los parámetros de precisión, exactitud, linealidad y especificidad para ser considerado como un método válido para dicha cuantificación.

Las muestras utilizadas en la presente investigación, fueron estándar de cocaína con un 99% de pureza y estándar de carbamazepina con 100.14% de pureza, utilizando éste como estándar interno.

Con los resultados obtenidos se procedió a la evaluación estadística la cual permitió concluir que el método propuesto si es válido para poder ser utilizado como un método analítico, es decir, sí cumple con las características necesarias para ser

implementado como un método de cuantificación de la pureza de cocaína, con la garantía que los resultados obtenidos con el mismo sean confiables.

Para el propósito de este trabajo, la validación incluye la evaluación de parámetros como: precisión, exactitud, linealidad y especificidad, posteriormente evaluados dichos parámetros, se procedió a cuantificar la pureza de dieciséis muestras de cocaína, obteniendo resultados que oscilan desde un 33% hasta un 100% de pureza.

Los objetivos de este trabajo fueron asegurar que el método propuesto permita la adecuada cuantificación del porcentaje de pureza de la cocaína, establecer con certeza la pureza de la cocaína decomisada en el país, demostrar que el método por cromatografía de gases para determinar la pureza de la cocaína es exacto, preciso, lineal y específico, siempre que se trabaje bajo las mismas condiciones propuestas en este trabajo.

La hipótesis del estudio plantea que el método de cromatografía de gases para cuantificar la pureza de cocaína, cumple con los requisitos de exactitud, precisión, linealidad y especificidad para poder ser implementado como un método de análisis.

Los resultados se basan en mediciones estadísticas tales como medias, desviación estándar, coeficiente de variación, intervalo de confianza del 95%, porcentaje de recuperación y regresión lineal.

2. INTRODUCCION

La cocaína es un alcaloide estimulante, que se caracteriza por disminuir la sensación de sueño o fatiga produciendo euforia y excitación, se obtiene de las hojas de la planta coca (**Erithoxylon coca**) arbusto que crece en América del Sur y otras zonas del globo. (10,11,17,31).

Por su alto potencial de abuso y gran tendencia a causar dependencia psíquica aparece en la lista II de las Regulaciones sobre la lista de sustancias controladas (Título 21, Partes 329.1 y 1308R). (11).

La cocaína tiene muy restringidas aplicaciones terapéuticas, actualmente sólo encuentra utilidad como anestésico de superficie sobre mucosas, en otorrinolaringología y odontología (16). Aunque ninguna de sus aplicaciones supera sus efectos adversos.

Es hoy en día la sustancia de abuso de moda. A diferencia de la heroína o los derivados del cannabis, su empleo se asocia a un buen nivel económico y social, en general se considera la "Droga de la Cultura". (16).

Por su posición geográfica y topografía, Guatemala ha sido utilizada en el tráfico ilícito de cocaína, esto se comprueba en decomisos realizados por el Departamento de Operaciones Antinarcóticas (DOAN), que hacen un total de 7,266.74 kilos de cocaína de enero a octubre de 1998.

El propósito principal del presente trabajo es validar el método de cromatografía de gases para determinar la pureza de la cocaína incautada, ya que dicho dato contribuye con respaldo científico legal en los peritajes realizados a nivel legal.

La validación del método incluirá la evaluación de parámetros como precisión, exactitud, linealidad y especificidad. Para el análisis se empleará cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Ya evaluados los parámetros anteriores se analizarán un mínimo de dieciséis muestras que previamente serán sometidas a análisis cualitativos (pruebas presuntivas) que confirman la presencia de la droga en mención.

Los resultados de las dieciséis muestras serán presentadas en porcentaje de pureza.

3. ANTECEDENTES

Hasta donde se conoce a nivel nacional, no se han realizado cuantificaciones de cocaína incautada por otro método que no sea el descrito por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), siendo éste a través de titulación (método titrimétrico).

Actualmente en el Laboratorio Químico/ Sección de Sustancias Controladas del Ministerio Público, sede de la realización del presente estudio, se aplica la metodología antes mencionada; y de acuerdo a datos de archivo se han encontrado muestras de variados porcentajes de pureza; así se estableció que en el último año, los mismos oscilan del 30%_93%. Sin embargo se ha llegado a establecer que no es confiable, posiblemente por el tipo de adulterantes contenidos en la droga, los cuales interfieren químicamente en las titulaciones.

Según bibliografía consultada, la pureza de la cocaína que se distribuye ilícitamente en el mercado oscila entre el 70% al 90%, esto depende de las condiciones de procesamiento y adulterantes que contenga (16). Rara vez superan una pureza del 86% (31).

A nivel Internacional existen estudios tales como los presentados en el Congreso de Toxicología Forense, realizada en la ciudad de Tampa Florida en octubre de 1994; en los cuales utilizan el Sistema Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas, dichos estudios no son directamente en la droga como tal sino en fluidos biológicos (orina), de los cuales se pueden mencionar:

a). James. J. Et al, Análisis de cationes en muestras de orina por Cromatografía de Gases/ Espectrometría de Masas. División de toxicología forense: Washington. (6).

- b). Robert Meatherall. Confirmación rápida por Cromatografía de Gases/ Espectrometría de Masas de anfetaminas y metanfetaminas de orina según derivados propilcloroformo. Laboratorio Médico.Hospital Nacional General San Bonifacio, Winnipeg, Canadá. (6).
- c). Pirjo Lillsunde. et al, Análisis simultáneo de varios opiáceos, anfetaminas, benzodiazepinas, cocaína y sus metabolitos en orina por Cromatografía de Gases/ Espectrometría de Masas. Instituto Nacional de Salud Pública. Laboratorio de Farmacología y Toxicología, Helsinki, Finland. (6).

Otro estudio reporta la extracción y detección de cocaína/ benzoilecgonina por Cromatografía de Capa Fina (sistema TOXI-LAB/ANSIC"MR"). Haciendo comparaciones entre estándares de 1, 3, y 19 Ug/mL y las muestras a analizar (30).

4. JUSTIFICACION

En el último decenio a habido un gran aumento de producción, tráfico y consumo de drogas ilícitas, el cual es reflejado en las cantidades enormes y cada vez mayores de drogas decomisadas a nivel nacional y regional.

Siendo la cocaína, la droga de mayor decomiso en nuestro país, es importante e indispensable que el análisis de las evidencias (decomiso) que se realizan en el Laboratorio Químico/ Sección de Sustancias Controladas del Ministerio Público, cuente con todo el respaldo científico y bibliográfico, ya que los resultados obtenidos deben ser presentados como parte del debate Oral y Público que exige el Código Procesal Penal

En virtud de lo anterior es importante contar con un sistema de cuantificación que garantice la exactitud de los resultados de análisis y que sea específico, evitando así la posible interferencia de los adulterantes contenidos en la cocaína de tráfico ilícito.

Los métodos analíticos con instrumental moderno, han sustituido enormemente a los métodos clásicos, que a la larga han sido descartados. Los métodos instrumentales son más confiables y se han validado internacionalmente.

Debido a que el Laboratorio Químico/Sección de Sustancias Controladas del Ministerio Público; cuenta con un Cromatógrafo de Gases acoplada a un Espectrómetro de Masas y siendo éste uno de los sistemas de detección más avanzado para éste tipo de análisis, esta investigación se hará con el empleo del equipo en mención (25,27).

Otra causa que justifica la realización del presente trabajo es que a nivel internacional en materia forense, se ha llegado a establecer que este tipo de

cuantificaciones (Determinación de la Pureza de la Cocaína), debe realizarse con instrumental adecuado específicamente por Cromatografía, ya sea con detector de masas, con detector de ionización de flama (FID) o por Cromatografía Líquida de alta Resolución (HPLC), puesto que han demostrado ser sistemas exactos y confiables.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL:

- 5.1.1. Garantizar que el método por Cromatografía de Gases, propuesto en este trabajo, para determinar la pureza de la cocaína, cumple con las características necesarias para poder ser utilizado como un método de análisis.

5.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 5.2.1. Asegurar que el método propuesto, permite la adecuada determinación del porcentaje de pureza de la cocaína.
- 5.2.2. Establecer con certeza la pureza de la cocaína decomisada en el país.
- 5.2.3. Demostrar que el método por cromatografía de gases para determinar la pureza de la cocaína es exacto, preciso, lineal y específico, siempre que se trabaje bajo las mismas condiciones propuestas en este estudio.

6. HIPOTESIS

El método de cromatografía de gases para cuantificar la pureza de cocaína, cumple con los requisitos de exactitud, precisión, linealidad y especificidad, para poder ser implementado como un método de análisis.

7. MATERIALES Y METODOS:

7.1. UNIVERSO DE TRABAJO:

Método de cromatografía de gases para cuantificar la pureza de cocaína.

Las muestras de cocaína se preparan y analizan de acuerdo al método y con los resultados obtenidos en los respectivos cromatogramas se evaluarán estadísticamente los parámetros de precisión, exactitud, linealidad y especificidad.

7.2. MEDIOS:

7.2.1. HUMANOS

7.2.1.1.AUTOR: Erasmo Abigail Chen Gonzalez

7.2.1.2.ASESORA: Licda. Miriam Dolores Ovalle Gutiérrez de Monroy.

7.2.2. INSTALACIONES:

7.2.2.1.Instalaciones del Laboratorio Químico/ Sección de Sustancias Controladas del Ministerio Público, ubicada en la 16av. 14 – 00 zona 6, ciudad de Guatemala.

7.2.3. INSTRUMENTAL Y TECNICO:

7.2.3.1.Cromatógrafo de Gases Hewlett – Packard 6890 acoplada a un Espectrómetro de Masas Hewlett – Packard 5973 y su Software Chemstation Nist 98.L (nombre comercial de una biblioteca empleada en el equipo).

7.2.3.2.Balanza analítica

7.2.3.3.Jeringa para cromatografía de 10 microlitros.

7.2.3.4.Cristalería e insumos de laboratorio.

7.2.3.5.Pipetas de repetición de 100 y 1000 microlitros.

7.2.3.6.Agitador eléctrico (vortex).

7.2.3.7.Viales cónicos para evaporación.

7.2.4. REACTIVOS:

7.2.4.1.Metanol.

7.2.4.2.Estándar de Cocaína (99% de pureza).

7.2.4.3.Estándar de Carbamazepina (100.44% de pureza).

7.3. PROCEDIMIENTO:

7.3.1. Reunir el número de muestras a analizar:

7.3.2. Selección del estándar interno a utilizar: En este estudio es la CARBAMAZEPINA (figura No.2).

7.3.3. Elaboración de la Curva de Calibración:

7.3.3.1. Preparación de la solución stock I, correspondiente al estándar interno (carbamazepina con un 100.44% de pureza): Pesar en la balanza analítica exactamente 100mg de carbamazepina y diluirlo con metanol en un balón volumétrico de 10 mililitros, aforar y agitar bien. Mantenerlo en refrigeración.

7.3.3.2. Preparación de la solución stock II, correspondiente al estándar de cocaína con un 99% de pureza: Pesar en la balanza analítica exactamente 100mg de cocaína y diluirlo con metanol en un balón volumétrico de 10 mililitros, aforar y agitar bien. Mantenerlo en refrigeración.

7.3.3.3. Preparación de las muestras para elaborar la curva de calibración:

En viales cónicos especiales, debidamente rotulados del 1 al 5 se agregan las cantidades del stock I y del stock II, completando cada vial con la cantidad necesaria de metanol para hacer un volumen total de 1000microlitros (1mL), como se detalla a continuación:

No. Vial	Stock I ug*	Stock II en microgramos	Metanol en uL	Volúmen total en uL
1	20uL = 200ug	10uL = 100ug	970	1000
2	20uL = 200ug	20uL = 20ug	960	1000
3	20uL = 200ug	30uL = 30ug	950	1000
4	20uL = 200ug	40uL = 40ug	940	1000
5	20uL = 200ug	50uL = 50ug	930	1000

* = Microgramos

° = Microlitros

7.3.3.4. Inyección de las muestras: Ya preparado los viales agitar en vortex e inyectar 1 uL. En el cromatógrafo de Gases/Espectrometría de Masas con las especificaciones siguientes:

METODO: CURVACM. (Nombre ingresado al software para ingresar el método).

CONDICIONES DEL EQUIPO CROMATOGRFO DE GASES/
ESPECTROMETRIA DE MASAS:

Temperatura del Horno: Inicial de 110°C por 2 minutos. Rampa I: 13°C/minuto minuto hasta alcanzar temperatura final.

Temperatura final: 280°C sostenida por 2 minutos.

TIEMPO DE CORRIDA: 19.08 minutos.

TEMPERATURA DEL INYECTOR: 250°C

TEMPERATURA DEL DETECTOR: (detector de masas): 280°C.

MODO DE INYECCION: SPLIT.

SOLVENT DELAY: 5.00 MINUTOS.

FLUJO DEL GAS PORTADOR (helio): 20.00mL/m

COLUMNA: Capilar Hewlett-Packard-MS (5% Phenyl Methyl Siloxane). Número de modelo: HP 19091S-433. Longitud: 30 metros, Diámetro: 250um, Grosor: 0.25um, Presión: 11.04psi, Velocidad Media: 37cm/segundo, Flujo inicial: 1.0mL/min.

CAPACIDAD TOTAL DE LA JERINGA: 10uL.

VOLUMEN A INYECTAR: 1 uL.

7.3.3.5. Análisis sobre la detección obtenida del tiempo de elución , peso molecular y compararlos con el de la Biblioteca NIST 98.L (nombre comercial de una biblioteca empleada en el software del equipo).

7.3.3.6.Elaboración de la curva de calibración a través de un programa estadístico incorporado en la memoria de la computadora del aparato a utilizar.

7.3.3.7.Validación del método con la determinación de: precisión, exactitud, linealidad y especificidad.

7.3.3.8. Utilización de la curva de calibración previamente elaborada y, evaluación de los parámetros anteriores, inyectando las muestras (se inyectarán 16 muestras por triplicado, reportándose las medias de las lecturas).

7.3.3.9. PREPARACION DE LAS MUESTRAS A CUANTIFICAR Y DEL ESTANDAR INTERNO:

7.3.3.9.1. Solución No.1: Pesar 10mg de cocaína y agregarlos en balón aforado de 10 mL. diluirlo con metanol y completar el volumen con sumo cuidado.

7.3.3.9.2. Solución No.2: Pesar 10 mg de carbamazepina y agregarlos en balón aforado de 10mL. diluirlo con metanol y completar el volumen con sumo cuidado.

7.3.3.9.3. Tomar de cada solución 0.3mL y 0.2mL respectivamente y colocar éstos volúmenes en vial cónico. Completar el volumen con metanol a 1000microlitros con ayuda de pipetas repetidoras automáticas.

7.3.3.9.4. Agitar e inyectar 1uL.

7.3.3.10. Determinar el porcentaje de pureza de las 16 muestras, mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ DE PUREZA} = \frac{\text{Miligramos de muestra detectada}}{\text{Miligramos de muestra teóricamente Inyectada}} \times 100$$

7.4. DISEÑO EXPERIMENTAL:

7.4.1. Validación del método:

Se evaluarán los siguientes parámetros según especificado en la USP XXIII.

7.4.1.1. Precisión:

Se inyectará como mínimo 10 veces una sola muestra de concentración conocida y basándose en la abundancia de iones registrados en los espectros de masas obtenidos, se determinará: promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

7.4.1.2. Exactitud:

Se realizarán inyecciones de soluciones de diferentes concentraciones, cada una de ellas será inyectada por triplicado, se calculará el porcentaje de recuperación (concentración determinada por el aparato) en cada una de las inyecciones, calculándose con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de recuperación} = \frac{\text{Cantidad encontrada}}{\text{Cantidad original}} \times 100$$

7.4.1.3. Linealidad:

Se evaluarán soluciones de muestras a las siguientes concentraciones de cocaína, agregándoles una concentración constante del estándar interno (carbamazepina) que es de 0.2ug/uL. Las concentraciones de cocaína a inyectar son de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5ug/mL, completando el volumen con metanol a 1000uL (1mL), el volumen a inyectar es de 1 uL. Cada muestra se inyectará por triplicado, con los resultados de concentración versus abundancia de iones obtenidos por medio de los espectros de masas, se graficará por medio de un análisis matemático de regresión lineal (método de mínimos cuadrados). Estos datos también se utilizaron para elaborar la curva de calibración.

7.4.1.4.1. Especificidad:

Se realizarán las siguientes inyecciones:

Dos inyecciones del estándar de cocaína.

Dos inyecciones del estándar interno (carbamazepina).

Dos inyecciones del estándar de cocaína & carbamazepina.

Dos inyecciones de muestras de cocaína de pureza desconocidas.

Dos inyecciones de la matriz (solución de metanol).

Exclusivamente se asegurará la especificidad o selectividad para las sustancias que se analizarán; esta prueba es satisfactoria si no hay interferencia para la detección de cocaína (no deben presentar ningún pico en el cromatograma en el tiempo de retención correspondiente a la cocaína).

7.4.1.5. Rango:

Se determinará la concentración máxima y mínima detectadas por el aparato (Cromatógrafo de Gases) con precisión, exactitud y linealidad preparando muestras de variadas concentraciones de cocaína (se trabajarán con las mismas muestras para la linealidad).

7.4.1.6. Robustez:

No se realizará debido a que se requiere de la colaboración de otros laboratorios, además por ser la cocaína una sustancia controlada y fiscalizada, se necesitarán trámites legales lo que sería difícil de controlar para cada laboratorio.

7.4.2. Determinación del porcentaje de pureza de cocaína:

7.4.2.1. Número de Muestras a analizar: dieciseis (16).

El nivel de confianza para determinar el número de muestras a utilizar es del 90% con un $\alpha = 0.10\%$, y asumiendo que la desviación estándar será igual al grado de error a aceptar.

El resultado a reportar de cada muestra será el porcentaje de pureza, el cual se obtendrá con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Pureza} = \frac{\text{Miligramos de muestra detectada}}{\text{Miligramos de muestra teóricamente Inyectada}} \times 100$$

8. RESULTADOS:

CUADRO No. 1

8.1. PRECISION:

No. De inyección	Concentración (mcg/mL)	Abundancia de iones
1	0.5	359022
2	0.5	355985
3	0.5	359021
4	0.5	359022
5	0.5	351897
6	0.5	359022
7	0.5	359020
8	0.5	359019
9	0.5	359022
10	0.5	359020
		X = 358005
		$\delta = 1.08$
		CV = 0.0003

X = PROMEDIO

δ = DESVIACION ESTANDAR

CV = COEFICIENTE DE VARIACION

CUADRO No. 2

8.2. EXACTITUD:

úmero de inyección	Concentración original en microgramos / mililitro	Concentración encontrada en microgramos / mililitro	Porcentaje (%) de recuperación.
1	0.1	0.0998	99.80
2	0.1	0.0987	98.70
3	0.1	0.0998	99.80
1	0.2	0.2000	100.00
2	0.2	0.1999	99.95
3	0.2	0.1998	99.90
1	0.3	0.2999	99.97
2	0.3	0.2999	99.97
3	0.3	0.2998	99.93
1	0.4	0.3998	99.98
2	0.4	0.3999	99.98
3	0.4	0.3999	99.98
1	0.5	0.5000	100.00
2	0.5	0.5000	100.00
3	0.5	0.5000	100.00
			X = 99.86
			$\delta = 0.32$
			CV= 0.32

X = PROMEDIO

δ = DESVIACION ESTANDAR

CV = COEFICIENTE DE VARIACION

CUADRO No. 3

8.3. LINEALIDAD Y RANGO:

Concentración en microgramos / mL (variable X)	Abundancia de iones (variable Y)	X ²	Y ²	XY
0.1	71194	0.01	5068585636	7119.4
0.1	75392	0.01	5683953664	7539.2
0.1	71194	0.01	5068585636	7119.4
0.2	150785	0.04	2.273611623E10	30157.0
0.2	151001	0.04	2.2801302E10	30200.2
0.2	150001	0.04	2.25003E10	30000.2
0.3	213591	0.09	4.562111528E10	64077.3
0.3	221982	0.09	4.927600832E10	66594.6
0.3	210491	0.09	4.430646108E10	63147.3
0.4	288335	0.16	8.313707223E10	115334.0
0.4	291104	0.16	8.474153882E10	116441.6
0.4	272988	0.16	7.452244814E10	109195.2
0.5	359022	0.25	1.288967965E11	179511.0
0.5	355985	0.25	1.267253202E11	177992.5
0.5	351897	0.25	1.238314986E11	175948.5
$\Sigma = 4.5$	$\Sigma = 3234962$	$\Sigma = 1.65$	$\Sigma = 8.449169305E11$	$\Sigma = 1020184.1$

$$Y = 699629.3X + 5775.33$$

$$r = 0.9972$$

La linealidad del método nos indica la capacidad de producir resultados proporcionales a la concentración inicial del principio activo. En ella, se toma X

Como la concentración inicial de cocaína y Y como la abundancia de iones detectada.

CUADRO No. 4

8.3.1. ANALISIS DE VARIANZA DE LA REGRESION:

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	RAZON DE LA VARIANZA (F).
MODELO	1	1.4684E11	1.4684E11	4685.01
ERROR	13	407465049	31343465.3	
TOTAL	14	1.4725E11	1.0518E10	

8.3.2. EVALUACION DE LA ECUACION DE REGRESION:

8.3.2.1. EL COEFICIENTE DE DETERMINACION:

Nos indica la dispersión de los puntos en torno a la recta de regresión alrededor de la media de los valores de la muestra de Y. De acuerdo a los cálculos la variación total en los valores observados de Y es de 1.4725E11, además el coeficiente de determinación (r) calculado es de 0.9972, lo cual indica que aproximadamente el 100% de la variación total en los valores observados (Y = abundancia de iones) es explicada por la regresión. Explicando así una gran proporción de la variabilidad total en los valores observados de Y, y se acepta la ecuación de la regresión.

8.3.2.2. PRUEBA DE HIPOTESIS:

Utilizando los datos de la tabla No. 4 de análisis de varianza se establecen las siguientes hipótesis:

8.3.2.2.1. Ho X y Y no están relacionados linealmente

8.3.2.2.2. HA: X y Y están relacionados linealmente

$$\alpha = 0.05$$

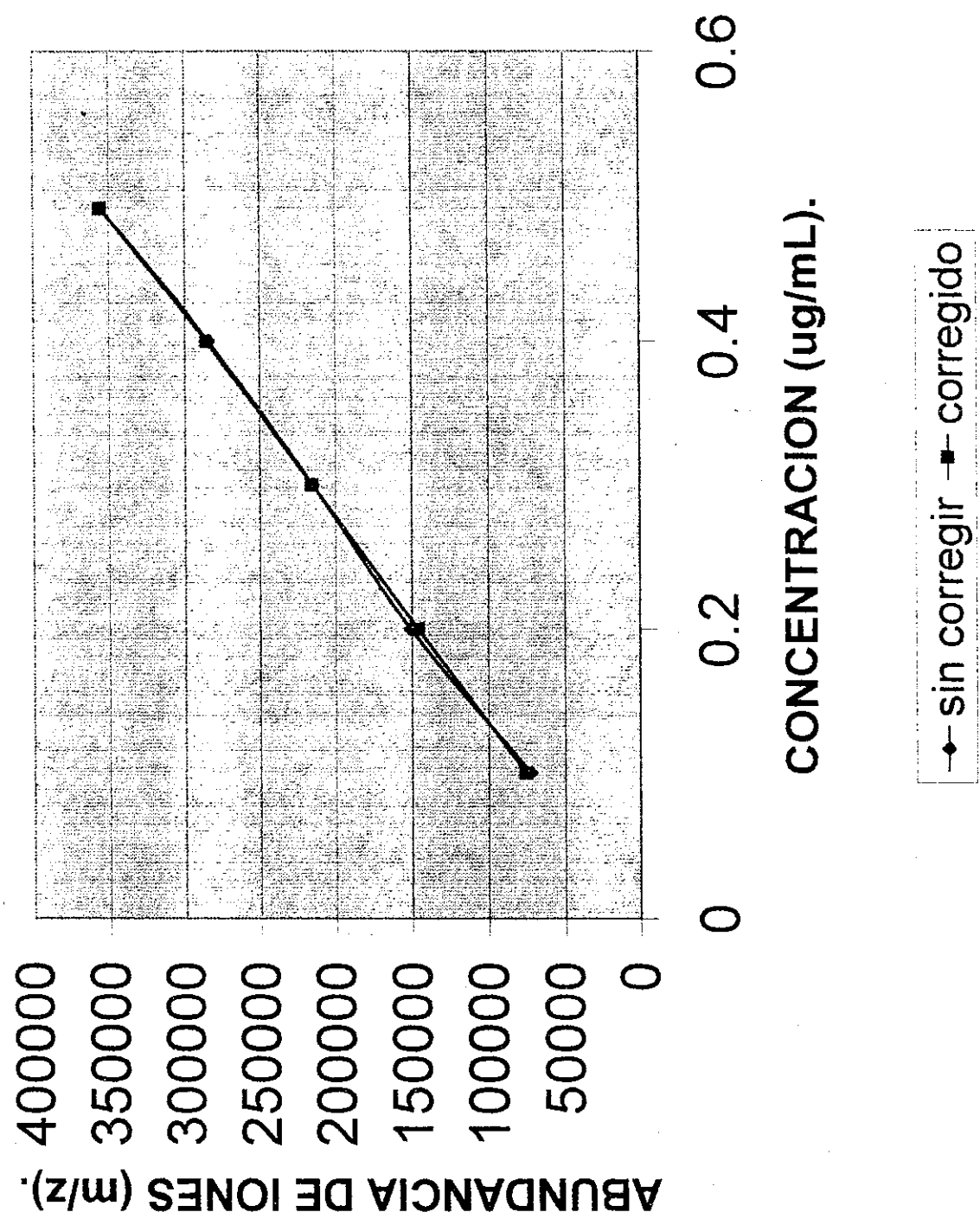
Nivel de significancia = 95 %

$$\text{VALOR DE " F CRITICO" } = 4.67$$

$$\text{VALOR DE " F CALCULADO" } = 4685.01$$

Dado que el valor de F calculado es mayor que 4.67 que es el valor crítico de F para 1 y 13 grados de libertad, se rechaza la hipótesis nula de no relación lineal entre X y Y y se concluye que las dos variables están relacionadas linealmente.

8.3.2.3. AJUSTE A LA MEJOR LINEA RECTA (REGRESION LINEAL SIMPLE),



CUADRO No. 5

8.4. ESPECIFICIDAD:

ESTANDAR (PREPARACION)	COMPONENTE	TIEMPO DE RETENCION
COCAINA	COCAINA	17.427
	COCAINA	17.430
CARBAMAZEPINA	CARBAMAZEPINA	19.496
	CARBAMAZEPINA	19.500
COCAINA & CARBAMAZEPINA	COCAINA	17.427
	CARBAMAZEPINA	19.496
COCAINA & CARBAMAZEPINA	COCAINA	17.426
	CARBAMAZEPINA	19.496
MUESTRA DE PUREZA DESCONOCIDA	COCAINA	17.427
	CARBAMAZEPINA	19.496
MATRIZ (METANOL)	COCAINA	-----
	CARBAMAZEPINA	-----

El método demostró ser capaz de separar e identificar tanto a la cocaína como a la carbamazepina (estándar interno), evidenciándose esto en los tiempos de retención de todas las muestras inyectadas como se muestra en el cuadro arriba descrito.

La resolución (separación de picos) del cromatograma fue adecuada (Anexo 1, 2, 3), no se presentó ninguna interferencia entre uno y otro compuesto; tampoco afectó el solvente o matriz, lo cual pudo comprobarse al inyectar por separado cada una de las sustancias objeto de análisis (Cuadro No. 5).

CUADRO No. 6**8.5. RESULTADOS DE LAS MUESTRAS DE COCAINA DE PUREZA
DESCONOCIDA.**

MUESTRA No.	PORCENTAJE DE PUREZA (%)
1	66.67
2	100.00
3	66.67
4	33.33
5	100.00
6	33.33
7	33.33
8	33.33
9	73.30
10	33.33
11	66.67
12	33.33
13	100.00
14	85.00
15	66.67
16	33.33

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

Con los resultados anteriormente presentados se comprobó que el método por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, propuesto para cuantificar la pureza de la cocaína ha sido validado y cumple con todos los parámetros necesarios para ser utilizado como un método de análisis, siempre y cuando se trabaje bajo las condiciones especificadas en el presente trabajo de tesis.

Para la evaluación de la precisión del método se inyectaron 10 muestras de igual concentración (ver cuadro No. 1). Sobre el total de los 10 resultados obtenidos, se cuantificó el grado de dispersión respecto a la media (358005), calculándose una desviación estándar de 1.08 y un coeficiente de variación de 0.0003, lo anterior lleva a concluir que el método empleado con el instrumental descrito posee una excelente precisión, aproximadamente del 100% ya que su coeficiente de variación es insignificante es decir casi cero.

El método también demuestra ser exacto (ver cuadro No. 2) ya que al analizar soluciones de muestras de concentraciones conocidas, se obtuvo porcentajes de recuperación que van desde el 98.70% hasta el 100%, con una media de 99.86%, una desviación estándar de 0.32 y un coeficiente de variación de 0.32, resultados que garantizan la exactitud del método.

En cuanto a los resultados de la linealidad, se utilizaron muestras de diferentes concentraciones de cocaína que van de 0.1 a 0.5 microgramos/mililitros e inyectándose cada uno por triplicado. Graficando concentración vrs. Abundancia de iones de cada una de las muestras antes mencionadas; y con el método de

mínimos cuadrados se ajustó la gráfica a la mejor línea recta (ver gráfica No.1) obteniéndose la siguiente ecuación:

$$Y = 699629.33X + 5775.33$$

Donde:

Y = abundancia de iones

X = concentración de las muestras en microgramos / mililitro.

699629.33 = pendiente de la línea recta

5775.33 = intercepto entre la recta y el eje Y

El coeficiente de determinación obtenido es de $r = 0.9972$, el cual indica que el 99.72% de los valores de abundancia de iones en Y están explicados por la función descrita con la ecuación de la recta.

Al realizar el Análisis de Varianza de la Regresión Lineal del método empleado Para cuantificar la pureza de la cocaína. Los resultados obtenidos, demuestran que los valores de X y Y están relacionados linealmente; esto se comprobó al efectuar el análisis de la hipótesis (H_0 : X, Y no están relacionados linealmente). La región de rechazo para $\alpha = 0.05$; 1 y 13 grados de libertad es $F \geq 4.67$; el valor calculado, 4685.01, cae en la región de rechazo por lo que puede rechazarse la hipótesis nula y aceptar la alternativa.

El rango de concentraciones que fueron detectados por el aparato con exactitud, precisión y linealidad son de 0.1 a 0.5 microgramos /mililitro, los cuales son las concentraciones que se utilizaron para determinar la linealidad del método.

Cabe mencionar que la sensibilidad del equipo permite realizar detecciones hasta de picogramos; sin embargo el objeto de este trabajo (Cuantificar pureza de cocaína) no precisa el empleo de concentraciones tan bajas.

Para evaluar especificidad del método se determinó tiempos de retención de la cocaína, y se descartó interferencia entre estas sustancias entre sí y entre las mismas y la matriz (ver cuadro No. 5).

La simplicidad del método es adecuada, siempre y cuando la persona que lo realice conozca la base científica de, y fundamentalmente la preparación científica que permita la correcta realización del mismo. Por lo que se requiere que sea un profesional del área química.

Al inyectar muestras de cocaína de pureza desconocida, los resultados obtenidos indican que dicho dato oscila desde el 33% hasta el 100% (ver cuadro 6).

10. CONCLUSIONES:

- 10.1. El método validado y que emplea cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas proporciona; datos específicos, exactos, y confiables que permiten su aplicación como método de cuantificación.
- 10.2. Mediante el empleo del instrumental descrito y la correcta aplicación del método se puede identificar y cuantificar las sustancias objeto de análisis, además de permitir la separación de las mismas de los adulterantes o contaminantes presentes.
- 10.3. El método utilizado en el presente trabajo de tesis es preciso, capaz de reproducir resultados a lo largo de varias inyecciones.
- 10.4. Se estableció que la pureza de las muestras de cocaína analizadas oscilan desde el 33%, hasta el 100%, predominando en la mayoría el porcentaje del 33% situación que permite ver presencia de adulterantes.
- 10.5. Para la validación del método fue fundamental contar con correcta calibración del equipo y conocimientos del fundamento del mismo.
- 10.6. El empleo del método permitirá la correcta y confiable determinación de la pureza de la droga analizada.

11. RECOMENDACIONES:

- 11.1 Realizar el análisis de reproducibilidad del método con equipos diferentes para enriquecer la validación efectuada.
- 11.2 Validar un método alternativo, con instrumental diferente que permita realizar controles de calidad de método a método.
- 11.3 Establecer relaciones con algún laboratorio de referencia para garantizar aún más los análisis realizados.
- 11.4 Verificar que en todo momento el método sea realizado por personal profesional calificado.

12. REFERENCIAS:

- 12.1. Aragón Bernabeu Oscar Antonio. "Validación del Método para Análisis de ácido acetil-salicílico en tabletas efervescentes por Cromatografía Líquida de Alta Resolución". Guatemala, Universidad Rafael Landívar , Facultad de Ingeniería; 26 de junio de 1996 (Tesis de Graduación). 50pp (p.31,32).
- 12.2. Ayres Gilberth H. " Análisis Químico Cuantitativo", editorial Harla S.A. de C.V. , segunda edición. México 1970; 740pp (186-188).
- 12.3. Barcelo R. José. "Diccionario Farmacológico de Química", editorial Alhambra Mexicana S.A., 4ta. Edición. España 1979; 740pp (239,241).
- 12.4. Conn Ph. D.P. Michael. "Principios de Farmacología", editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. MéxicoD.F. 1991;)181-1891).
- 12.5. Charles A. et al. "Chromatographic Methods In Gas Analysis ; Hewlett-Packard. 100pp (44).
- 12.6. Congree of the Internartional Asociati3n of Forensic Toxicologist (TIAF) and the Society of Forensic Toxicologist (SOFT), October 31-November 4. 1994 en Tampa Florida. 521pp.
- 12.7. De León Barrientos de Barco Sandra Patricia. " Validación del Método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución para cuantificar Vitamina "A" en tabletas multivitamínicas masticables". Universidad de San Carlos. Guatemala (Tesis de Graduación). Enero de 1998. 65pp.
- 12.8. Dr. Jorge Bolívar Díaz , "Situación de las Drogas en Guatemala". Secretaría Ejecutiva de la Comisión contra las adicciones y el Tráfico Ilícito de Drogas -SECCATID- Agosto 1997.
- 12.9. Folleto sobre Muestreo Representativo de Sustancias Controladas. Ministerio Público. 52pp.

- 12.10. Gisbert Calabulg Juan Antonio. "Medicina Legal y Toxicológica", editorial Masson S.A. de C.V. Cuarta edición. Barcelona (España) 1994. 1872pp (1434, 1829, 1839).
- 12.11. Goodman & Gilman Alfred. "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica", editorial McGRAW- HILL Interamericana, novena edición. México 1996. 1996pp. Volúmen I y II (296, 360, 610, 1747).
- 12.12. Glosaria de Términos sobre garantía de Calidad y Buenas Prácticas de Laboratorio. Naciones Unidas para la Fiscalización Internacional de Drogas. Nueva York 1995. Viena ST/NAC. 26, 80pp.
- 12.13. Harris Daniel C. "Análisis Químico Cuantitativo", editorial Iberoamericana S.A. de C.V., 3ra. edición. EE.UU. 1995. 866pp (637-656).
- 12.14. Irving Sunshine. "Methodology For Analytical Toxicology", editorial CRC. U.S.A. 1975. Volúmen II. (462-463).
- 12.15. K. Hostettmann, et al "Preparative Chromatography Techniques. Applications In Natural Product Isolation". London París, Tokio. 1966. 303pp (139).
- 12.16. Ladron de Guevara Juan. "Toxicología Médica, clínica y Laboral", editorial Iberoamericana McGRAW-HILL., 1ra edición. España 1995. (605-615).
- 12.17. Litter Manuel. "Farmacología Experimental y Clínica", editorial "El Ateneo" Pedro García S.A., séptima edición, agosto 1986. 1672pp (572, 1439, 1829, 1834).
- 12.18. "Las Drogas" efectos, consecuencia y prevención, Secretaría Ejecutiva de la Comisión Contra Las Adicciones y El Tráfico Ilícito de Drogas -SECCATID- 40pp. (13).
- 12.19. Moffat A.C. Clark's "Isolation and Identification of drug, in Pharmaceuticals, body fluid, and post-mortem material", The Pharmaceutical Society of Great Britain., second edición. London 1986. 1223pp (428, 489).
- 12.20. Manual de Control de Drogas / Identificación Preliminar de las Drogas, Departamento de Justicia de los EE.UU. Agencia para el Control de Drogas. 245pp (183, 195).

- 12.21. McNAIR Harold M, "Cromatografía de Gases", Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos (OEA). Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico . Washington ,D.C. 1981. 90pp.
- 12.22. Manual del Instituto de Ciencias Forenses de Puerto Rico. Laboratorio de Criminalística , División de Evidencias Físicas; Sección de Sustancias Controladas. Sección de Química Forense. 20pp (4-10).
- 12.23. Remington Alfonso. "Farmacia", Editorial Médica Panamericana, S.A. 17ª. Edición. Argentina 1987. 2723pp. Tomo I y II.
- 12.24. Naciones Unidas . " Métodos Recomendados Para el Ensayo de Cocaína". Manual Para uso de los Laboratorios Nacionales de Estupefacientes, Nueva York 1986. ST/NAR/7. 34pp.
- 12.25. Szymansky Herman A. "Bromedical Applications of Gas Chromatography", Plenum-Press. New York. 1968. Volúmen II. 189pp.
- 12.26. Shugar Gershon J, et al. "Chemical Technicians Ready , Reference Handbook", editorial McGRAW-HILL,INC, United States of América, New York 1996. 972pp, (853,865).
- 12.27. Skoog Douglas A, et al. "Análisis Instrumental", editorial McGRAW-HILL, 4ta. Edición . España 1994, 935pp. (1,10,493,511,705,721).
- 12.28. The Merck Index, editor Susan Budavari., Twelfth edition, Merck&Co. INC. USA. 1996. 10330pp. (2517,2518).
- 12.29. The United States Pharmacopeia. The National Formulary. XXedition. USA july 1980. 1453pp. (163).
- 12.30. TOXI-LAB, Drug Compendium, EDITEBBY, División of ANSYC INC, 1996. Catalogo No. 201.
- 12.31 Tim Marnell. "Drug Identification Bible^R .", editorial Copyright, Third Edition. Denver 1997. 725pp (434-456).
- 12.32. Villee Claude A. "Biología", editorial Interamericana S.A. de C.V., primera edición en español. México D.F. 1987. 1342pp (965).

13. ANEXOS:

13.1. MARCO TEORICO:

13.1.1.VALIDACION:

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establece, con estudios de laboratorio, que las características de ejecución de el método llenan los requerimientos para las aplicaciones analíticas proyectadas (1).

Es una forma sistemática de asegurar que un método de análisis cumple con las características necesarias para poder ser utilizado en el análisis de un producto terminado (7,29).

Las características de ejecución son expresadas en términos de parámetros analíticos. Los parámetros que deben ser considerados en la validación de un método son los siguientes:

- a). **Selectividad:** También llamada especificidad ; es la capacidad de medir específicamente un componente en presencia de otros que pueden estar presentes en la matriz de la muestra (1,7,29). Es la capacidad que tiene un método analítico para diferenciar una sustancia de otra durante el análisis.
- b). **Exactitud:** Es la concordancia entre el valor real y el valor encontrado durante el análisis (1). Es una medida del valor real de un método analítico (1,7,29).
- c). **Precisión:** Es el grado de concordancia entre los resultados de análisis individuales cuando el procedimiento es aplicado repetidamente a múltiples muestras de una muestra homogénea. Es una medida de el grado de reproductibilidad de un método analítico bajo condiciones operacionales normales (1,7,29).
- d). **Linealidad:** Es la capacidad de un método analítico de definir en forma matemática que los resultados de un ensayo son directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida, proporcionales a la concentración de la muestra dentro de un rango dado. Usualmente es expresada en términos de varianza alrededor de la línea de regresión calculada de acuerdo a una relación matemática establecida a partir de los resultados obtenidos por las muestras analizadas con concentraciones variables del activo (1,7,29).

e). **Reproductibilidad:** Es el grado de variación de los resultados obtenidos por el análisis de las mismas muestras bajo una variedad de condiciones normales de ensayo, tales como diferentes laboratorios, diferentes analistas, diferentes instrumentos, diferentes lotes de reactivos, diferentes tiempos de ensayo, diferentes temperaturas de ensayo, diferentes días, etc.

13.1.2. CROMATOGRAFIA

13.1.2.1. HISTORIA DE LA CROMATOGRAFIA:

La cromatografía tuvo su origen en las experiencias que realizó el Biólogo ruso Tsweet en 1906, separando pigmentos por cromatografía de adsorción. Desde entonces la cromatografía ha experimentado un notable desarrollo (1,3,5,10,22,27).

El remarcable trabajo de Martín y Synge en 1941 (por el cual ganaron el premio Nobel) no solo revolucino la cromatografía líquida sino en general ubicó el escenario para el desarrollo de la cromatografía gaseosa y en papel.

En 1952, Martín y James publicaron el primer trabajo sobre cromatografía gaseosa. Entre 1952 y finales de la década de los 60's la cromatografía gaseosa se desarrolló como una técnica analítica sofisticada (1,3,10,27). Imponiéndose rápidamente como técnica capaz de separación y cuantificación de productos suficientemente volátiles, desde gases permanentes hasta moléculas tan complejas como azúcares y aminoácidos (10,21).

La última técnica cromatográfica desarrollada ha sido la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR), en la que el líquido eluyente es impulsado a través de la columna a presiones elevadas (10).

13.1.2.2. DEFINICION:

La cromatografía puede definirse como la técnica de separación de una mezcla de solutos, basada en diferente velocidad con que se mueve cada uno de los componentes a través de un medio poroso arrastrado por un disolvente en movimiento (1,3,10,13,21). En toda cromatografía se distingue: Fase Estacionaria: Puede ser líquida o sólida. Fase Móvil: puede ser un líquido (un disolvente o mezcla de disolventes) o gas (1,7,10,21)

13.1.2.3. CROMATOGRAFIA DE GASES:

La Cromatografía de Gases

es una técnica de separación que ha evolucionado la química analítica. James y Martín la idearon en 1952 (1,21).

Su fase móvil es un gas inerte (hidrógeno, helio, nitrógeno), cuya finalidad es transportar las moléculas de las muestras a través de la columna que contiene la fase estacionaria. Su fe estacionaria: Usualmente un líquido volátil que recubre un soporte sólido, pero algunas veces un sólido., el soluto: gas o líquido volátil., Columna: Capilar o empacada de material de cobre, aluminio, acero inoxidable, vidrio o cuarzo (7,10,21).

* Componentes Básicos:

Básicamente consiste en seis partes (figura No. 3).

1. Cilindro de gas portador:

Es un tanque de alta presión, con reguladores de presión y medidores de flujo necesario; el gas debe ser inerte, no reaccionar con la muestra ni con la fase estacionaria, debe tener alto grado de pureza. El propósito del gas portador es transportar los componentes volátiles de la muestra a través de la columna,

comotambién obtener la matriz adecuada para que el detector mida el componente de la muestra (21).

El control de flujo y su medición: su propósito, son esenciales tanto para la eficiencia de la columna como para el análisis cualitativo.

2. Sistema de inyección de la muestra:

Propósito: Permite la introducción de muestras, para conseguir la mejor forma del pico y la resolución máxima, deberá usarse la mínima cantidad de muestra. Puede inyectarse con una jeringa de cierre hermético o a través de una válvula de muestreo de gas.

3. Columna de Separación:

Propósito: Efectuar la separación de los componentes de una muestra, en general se usan columnas de acero inoxidable (1,7,10,13,21).

4. Detector:

Dispositivo que mide la concentración de cada uno de los componentes de la muestra y genera una señal eléctrica proporcional a dicha concentración, los dos detectores más importantes son los de conductividad térmica (CT) y el detector de ionización de llama (DIL), representan alrededor del 90% de todos los detectores actualmente en uso.

5. Registro Gráfico:

Propósito: Imprimir la señal eléctrica que es generada por la muestra en el detector lo cual configura un cromatograma (registro escrito del análisis), puede ser un registrador o un computador.

6. Compartimiento separados en termostatos para contener las columnas y el detector y poder regular su

Temperatura o programar la temperatura de la columna.

* ANALISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO:

La Cromatografía de Gases representa sin duda una de las más importantes herramientas con que ha contado el analista desde su introducción hasta nuestros días

(10,27,28). Sus aplicaciones a análisis cualitativo-cuantitativo son muy numerosas, habiendo desplazado a otras técnicas cromatográficas por las ventajas que representa. La precisión de un análisis por cromatografía de gases se sitúa por término medio alrededor del 2%, con un límite de sensibilidad de aproximadamente 1-0,5 microgramos por mililitro.

* **CROMATOGRAFIA DE GASES/ESPECTROMETRIA DE MASAS (CG/MS).**

Uno de los sistemas de detección más sofisticados tanto para el análisis cualitativo como para el cuantitativo es la CG/MS, utilizando columnas capilares que funcionan a una velocidad de flujo del gas portador de 2mL/min. Una vez los componentes efluentes entran a la cámara del espectrómetro de masas, se fragmentan mediante un haz de electrones, estas partículas fragmentadas cargadas se aceleran o dirigen al centro del espectrómetro de masas, el cual pueden utilizar cualquiera de los sistemas analizadores de masa.

Estos iones pueden separarse de acuerdo al radio de la carga de masa y posteriormente ser identificados con patrones característicos de fragmentación, al igual que otros detectores de CG, este sistema de espectrómetro de masas proporciona tiempos de retención y mediciones de área de picos, sin embargo la información de estructuras obtenidas a través de los patrones de fragmentación puede utilizarse para la plena identificación de los componentes de una mezcla. La identificación de las moléculas se simplifica mediante la computarización de espectros a una biblioteca integrada en la memoria de la computadora del CG/MS (4,26,27).

13.1.3 COCAINA:

Droga estimulante que se caracteriza por disminuir la sensación de sueño o fatiga produciendo euforia y excitación. Estos efectos psíquicos se acompañan en

mayor o menor grado de acciones sistémicas , fundamentalmente cardiovasculares (aumento del ritmo cardíaco y tensión arterial). (4,11,16,17,26,31).

Es un alcaloide que se obtiene de las hojas de la planta Coca (**ERITHOXYLON COCA**), arbusto que crece en América del sur (Bolivia y Perú), aunque se ha adaptado a muy diversas zonas del globo como el norte de Africa , sudeste asiático y Taiwán. (4,10,12,16,17,28,31,32).

Por su potencial uso, aparece en la Lista II de la Regulaciones Federales sobre la Lista de Sustancias Controladas (Título 21 , Partes 329.1 y 1308.R.) (11). Dichas sustancias tienen un alto potencial de abuso, con gran tendencia a causar dependencia psíquica o física. (11,28).

13.1.3.1. HISTORIA:

El empleo de cocaína data de épocas muy anteriores al descubrimiento de América . A finales del siglo XIX se descubrió de manera casual como primer anestésico local. (2,7,8).

Fue aislada por Goedken en 1844 de las hojas de coca brasileña; sin embargo fue hasta el año 1860 que Niemann aisla el alcaloide puro a partir de las hojas de coca, observando que producía adormecimiento de la lengua.

La primera descripción técnica y sus potenciales usos médicos data del siglo XVI hecha por el Sevillano Nicolás Monardes (1580). (16). Sigmund Freud estudió sus acciones fisiológicas y Carl Koller lo introdujo en el ejercicio clínico en 1884 como anestésico tópico para operaciones oftálmicas. En el siglo XIX está plenamente introducida en la terapéutica . (4,10,11,23,29).

A causa de su toxicidad y sus potenciales propiedades adictivas en 1892 se inició una búsqueda de sustitutivos sintéticos , y, en 1905 Einhorn y colaboradores lograron la síntesis de procaína , convirtiéndose en el prototipo de los anestésicos

locales. Actualmente solo encuentra utilidad como anestésico de superficie sobre mucosas, en otorrinolaringología y odontología , (4,11,16,19).

13.1.3.1. NOMBRES TRIVIALES:

Coca , nieve, polvo, soplo, la gran "C", base perico, la dama blanca , crack, golpe, corina, roxana, caño blanco, tique, rock, grandeza, material para nariz. (18,20,16,31).

13.1.3.2. DESCRIPCION:

Cristales incoloros a blanco o polvo cristalino blanco que a menudo se diluye con otros ingredientes. (16,18,23,28).

El clorhidrato de cocaína es un polvo blanco niveo con sabor amargo característicamente embota la zona de la mucosa oral que se emplea para degustarla. (16). Es un éster del ácido benzoico y del alcohol complejo 2-carboximetoxi,3-hidroxi-tropano, (11). Químicamente es 2-metil-3-bencilecgonina , que presenta un grupo amino-hidrofílico conectado por un grupo intermediario a un residuo aromático lipofílico (Figura No.1). (10).

Sus características en Espectrometría de Masas: sus iones de fragmentación más importantes son: 82, 182, 83, 105, 303, 77, 94, 96 m/z. (espectro No.1). (19).

13.1.3.3. ADULTERANTES MAS COMUNES Y PUREZA:

La cocaína que llega al toxicómano tiene una pureza que oscila entre el 70% y 90%. Los contaminantes más comunes son: Anestésicos locales no fiscalizados(lidocaína,benzocaína,procaína),

Azúcares(menita, manitol, lactosa, glucosa, etc.), metanfetaminas en polvo, cafeína, sulfato de magnesio, quinina, vitaminas en polvo, todo polvo soluble que no tiene un efecto sobre el cuerpo puede ser usado, tal como bicarbonato de sodio, azúcar en polvo, almidón, etc. A veces se adiciona con carbonato bórico , u otros contaminantes con elevada densidad para aumentar el peso de la misma.(16,19,31).

13.1.3.4. METODOS PARA HACER UNA APROXIMACION DEL PORCENTAJE DE PUREZA DE COCAINA Y DEL AGENTE CORTADOR (adulterantes), realizada por los traficantes:

1. **Análisis Químico Cuantitativo:** Proceso complicado que exige un Químico competente y cierto equipo de laboratorio sofisticado (Cromatógrafo de gases o HPLC).
2. **Equipo de Análisis de Droga:** Consisten simplemente en presuntos análisis de color. El que se usa para la cocaína es Tiocianato de Cobalto.
3. **Análisis de Lejía:** Aparentemente la cocaína se disolverá completamente y la procaína se torna rojo anaranjado, mientras que todo sustancia adulterante caerán lentamente en el fondo del frasco como un residuo.
4. **Análisis de Agua:** La cocaína se disolverá casi inmediatamente , dejando como residuo al adulterante que normalmente tardará más tiempo en disolverse.
5. **Análisis de Quemado:** La cocaína se quema clara, mientras más adulterado esté la muestra , más oscuro será el quemado.
6. **Análisis de Metanol:** Los adulterantes más comunes no se disolverán , pero sí la cocaína.
7. **Análisis de Utilización:** Inhalan o aspiran por la ventanilla de la nariz , cierta cantidad de muestra ; es probablemente el análisis más empírico y rudimentario que se hace en la calle. Tratan de determinar la rapidez con que se alcanza el estado de euforia y entumecimiento. No se recomienda para el personal de la policia.

8. Prueba de Sabor: La cocaína tiene un sabor amargo y cualquier adulterante altera dicho sabor.
9. Prueba de Observación: Los cristales puros de cocaína presentan lustres casi transparente. Se entiende que una indicación de pureza son las materias minúsculas en forma de piedrecillas que estan contenidas en la sustancia total. (20,31).

13.1.3.5. ANALISIS CUALITATIVO PARA COCAINA:

A: PRUEBA DE PRECIPITACION Y COLORIMETRICAS:

1. Prueba de Mayer: La formación inmediata de un precipitado blanco indica la presencia de alcaloides.
2. Prueba de Marquis: La aparición de un color violeta intensa indica la presencia de derivados de opio. En caso de Cocaína la solución permanece incolora.
3. Prueba de Scott: A. Colocar la muestra representativa en tubo de ensayo, añadir 1mL de tiocianato de cobalto en glicerina. Un precipitado azul intenso se forma y permanece constante cuando la cocaína está presente. De lo contrario indica presencia de lidocaína. A la solución 3A. agregar unas gotas de ácido clorhídrico hasta que la solución se torne rosa. A la solución anterior añadir aproximadamente 1mL de cloroformo, la capa inferior (clorofórmica) se torna azul y la superior permanece rosa. Este comportamiento indica la presencia de cocaína.

B: OBSERVACION MICROSCOPICA DE CRISTALES:

Colocar la muestra representativa sobre una laminilla de microscopio. Disuelva la muestra con una gota de ácido clorhídrico y añadir una gota de

cloruro de platino al 5%. La formación de cristales en forma de helechos se observa cuando la cocaína esta presente. (22).

C. ANALISIS INSTRUMENTAL:

1. Espectrofotometría de Masas (UV): La aparición de un espectro ultravioleta con bandas de absorbancia máximas en $233\pm 2\text{nm}$ y $275\pm 2\text{nm}$; y bandas de absorbancia mínimas en $210.56\pm 2\text{nm}$ y $262\pm 2\text{nm}$, respectivamente indican la presencia de cocaína. (9).
2. Cromatografía de Gases: Se obtendrán cromatogramas característicos para cocaína, los cuales se comparan con un estándar puro de cocaína.
3. Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (CG/MS): En ocasiones la muestra está muy adulterada y esto impide obtener resultados claros o consistentes. En éstos casos , esta técnica puede ser utilizada para confirmar la presencia de cocaína y lograr una identificación positiva.

D. INVESTIGACIONES TOXICOLOGICAS:

Se lleva a cabo mediante reacciones químicas, cristalográficas, biológicas y cromatográficas, otros métodos como el radioinmunoanálisis y el enzimoimmunoanálisis son técnicas cuantitativas muy sensibles de la benzoilecgonina urinaria. (10).

E. METODO OFICIAL PARA DETERMINAR LA PUREZA DE LA COCAINA:

1. Para cocaína base: Pesar aproximadamente 600mg de cocaína , disolverlo en 50mL de ácido acético glacial, agregar una gota de cristal violeta Ts. Seguidamente titular con ácido perclórico 0.1N hasta llegar al punto final de un color verde esmeralda. Determinar la lectura del blanco y corregir si es

necesario. 1mL de ácido perclórico 0.1N es equivalente a 30.34mg de cocaína base. El resultado no debe tener más de 101.0% y no menos del 99.0% de pureza. (19).

2. Para clorhidrato de cocaína: Pesar aproximadamente 500mg de clorhidrato de cocaína , disolverlo en una mezcla de: 40mL de ácido acético glacial, 10mL de acetato de mercurioTS, luego agregarle 2 gotas del indicador rojo de quinoleina TS. Seguidamente titular con ácido perclórico 0.1N VS. Hasta llegar al punto final de un color verde esmeralda. Determinar lectura del blanco y corregir si es necesario. 1mL de ácido perclórico 01N es equivalente a 33.9mg de clorhidrato de cocaína, el resultado no debe tener menos del 99% y no ms de 101.0% de pureza. (19).

13.1.3.6. FARMACOCINETICA

ABSORCION:

El clorhidrato de cocaína se absorbe en porcentaje elevado a través de la mucosa oral, nasal o genital. La base libre pero no la sal puede absorberse por inhalación del vapor, prácticamente se absorbe el 100%. Los metabolitos son la benzoilecgonina y el ester metílico de la ecgonina que se elimina por filtración glomerular. (10,16).

DESTINO Y EXCRECION:

Aproximadamente el 20-30% de la dosis absorbida se elimina a través de la orina . Después del consumo de dosis eficaces es detectable en la orina durante las 24-36 horas siguientes. La vida media es de 08 horas y el volumen de distribución es de 2L/kg. (10,11,16). Se excreta en menos de 24 hortas por el riñón , parte como cocaína no transformada y la mayor parte como metabolito. (11).

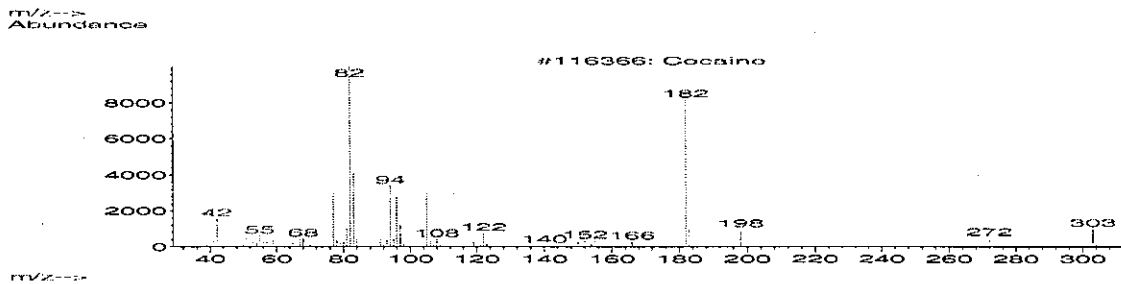
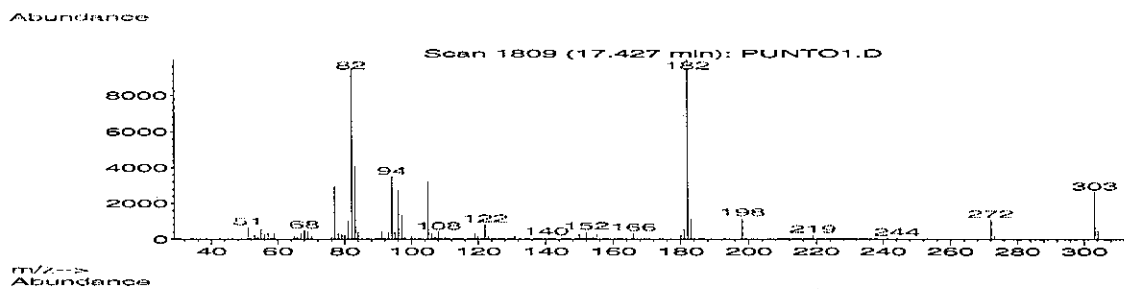
DOSIS TOXICA:

Es difícil de establecer. La susceptibilidad individual a sus acciones, fenómenos previos de adaptación o la existencia de factores patológicos, tipo de epilepsia o cardiopatías, son factores que la modifican en límites muy amplios. En general se estima que dosis de cocaína superiores a 10.20mg pueden producir acciones graves en un sujeto adulto. Sin embargo; la aspiración nasal de dosis superiores a los 200-300mg no producen acciones peligrosas en toxicomanos. La dosis letal se estima que es proxima a 1 gramo por la via intranasal, 5-10g por la via oral. (11).

ANEXO No. 1

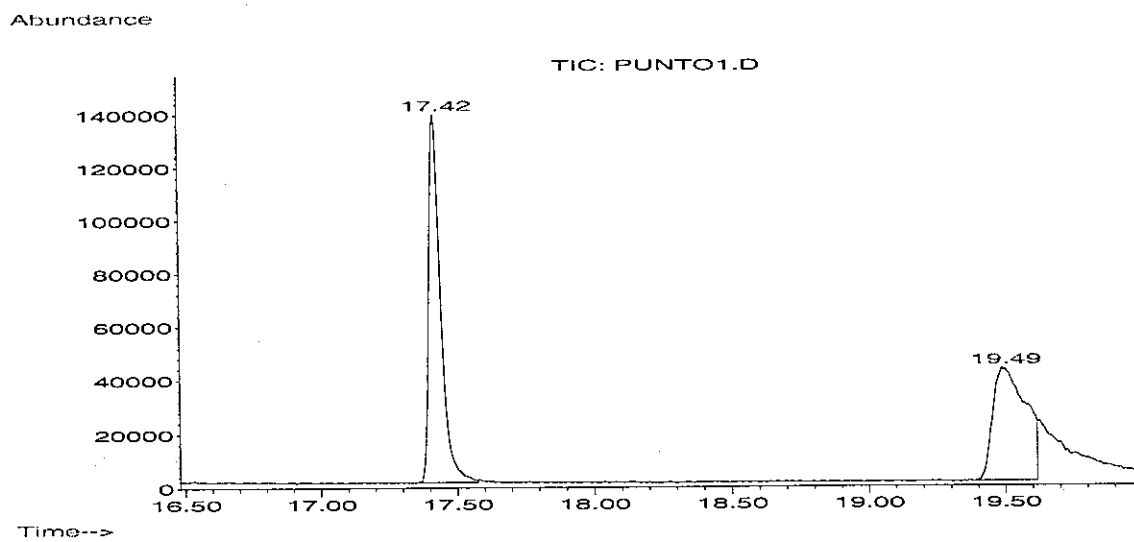
Cocaine

Match Quality : 99
Entry Number : 116366
CAS Number : 000050-36-2
Molecular Weight : 303.15
Molecular Formula: C₁₇H₂₁NO₄
Retention Index : 0
Company ID : NIST 1998
Melting Point :
Boiling Point :
Misc Information :
NIST MS# 246803, Seq# R8480



ANEXO No. 2

File : C:\HPCHEM\1\DATA\PUNTO1.D
Operator : MOM/et al
Acquired : 3 Mar 1999 1:12 pm using AcqMethod COCAINA
Sample Name: COCAINA 0.1uG/mL+CARBAMAZEPINA0.2 uG/mL(STDI)
Misc Info : ELABORACION DE CURVA DE CUANTIFICACION
Vial Number: 1
CurrentMeth: C:\HPCHEM\1\METHODS\COCAINA.M



ANEXO No. 3

Carbamazepine

Match Quality : 99
Entry Number : 125908
CAS Number : 000298-46-4
Molecular Weight : 236.10
Molecular Formula: C₁₅H₁₂N₂O
Retention Index : 0
Company ID : NIST 1998
Melting Point :
Boiling Point :
Misc Information :
NIST MS# 250712, Seq# R18022

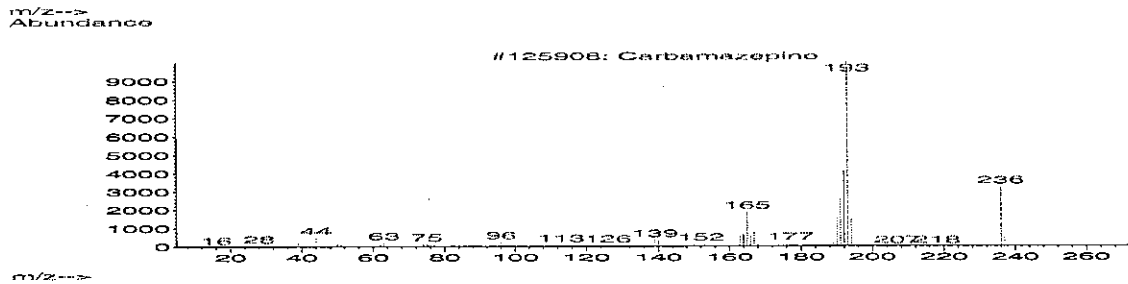
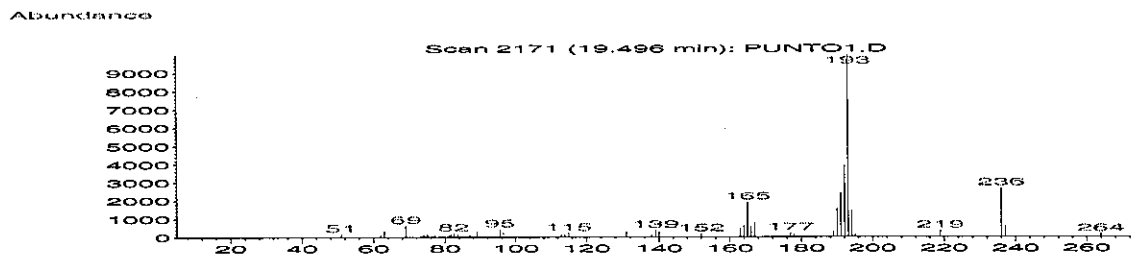
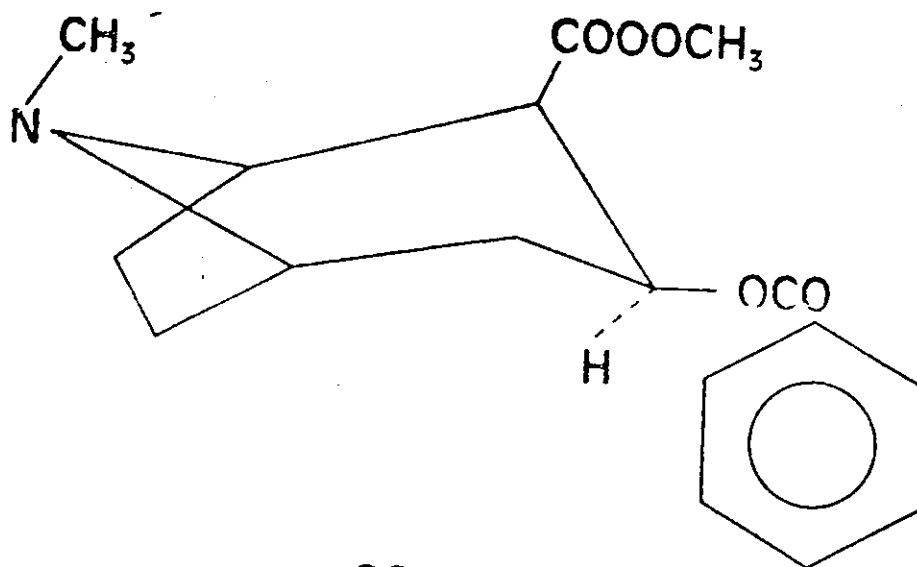
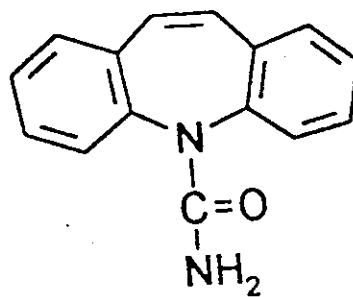


FIGURA No.1
ESTRUCTURA MOLECULAR DESARROLLADA
DE LA COCAINA



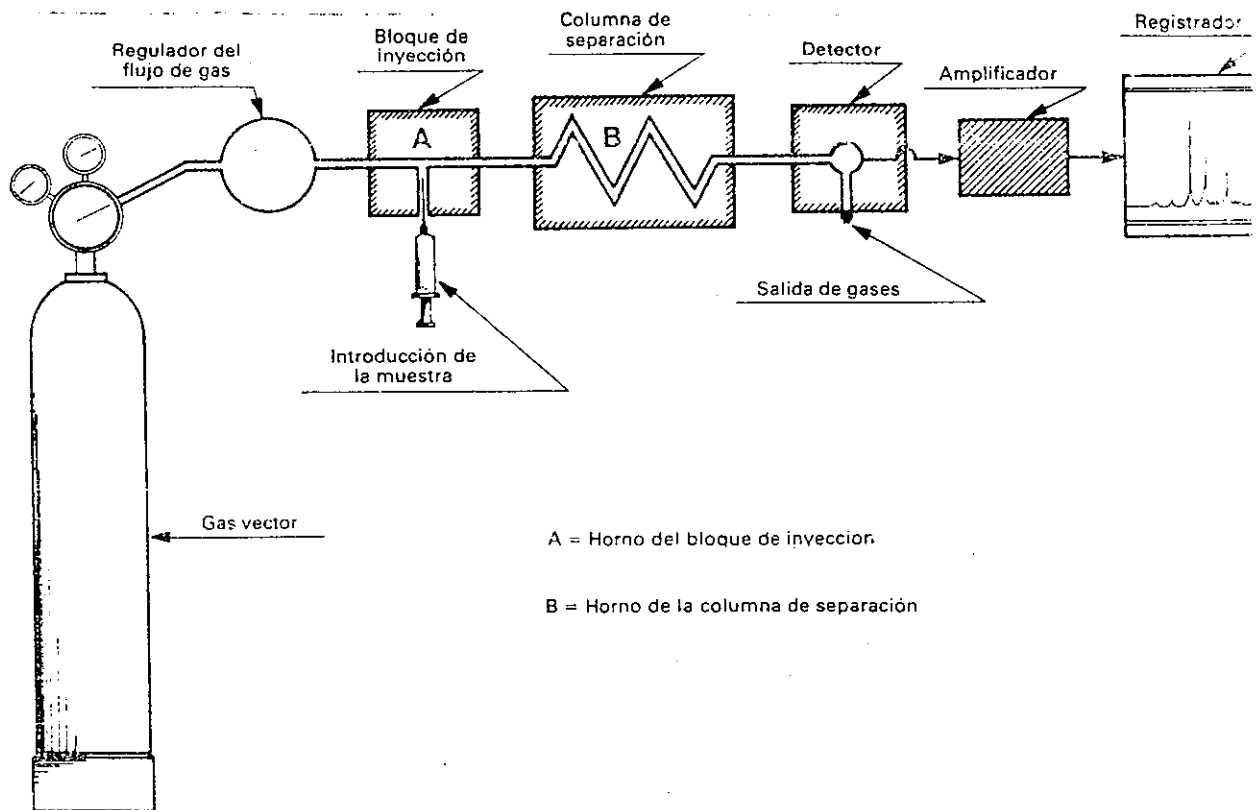
COCAINA

FIGURA N.2
ESTRUCTURA MOLECULAR DESARROLLADA
DE LA CARBAMAZEPINA

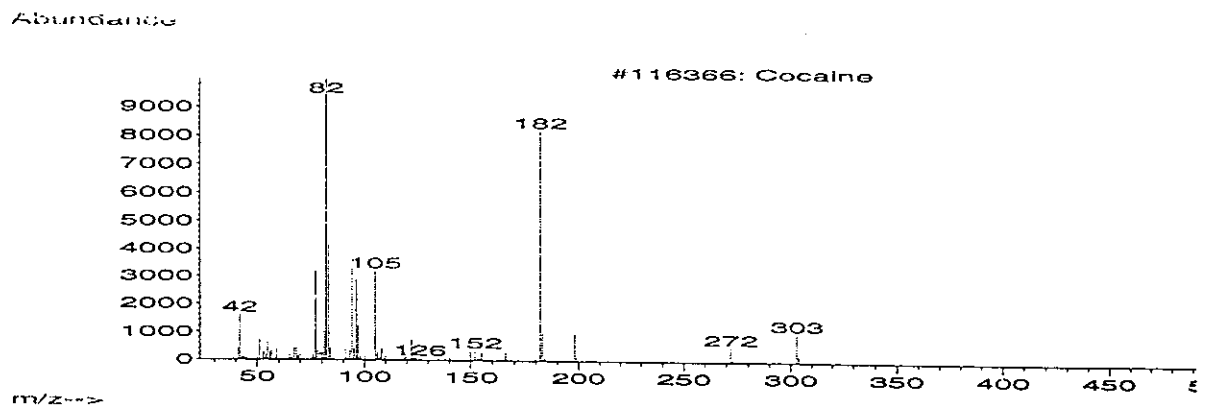


CBA
Carbamazepine

FIGURA No.3
ESQUEMA DE UN EQUIPO DE
CROMATOGRAFIA DE GASES



Esquema de un equipo de cromatografía de gases.

ESPECTRO No.1EJEMPLO DEL ESPECTRO DE MASAS
DE LA COCAINA.



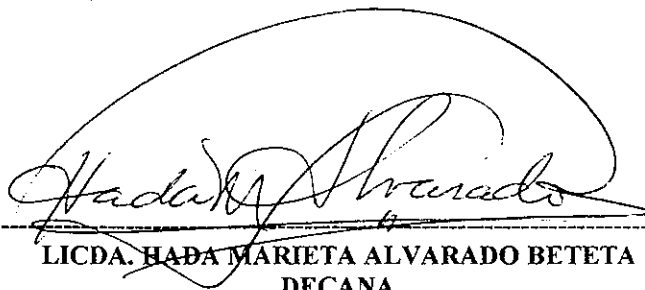
ERASMO ABIGAIL CHEN GONZALEZ
AUTOR



LICDA. MIRIAM DOLORES OVALLE
GUTIERREZ DE MONROY
ASESORA



LICDA. LUCRECIA PERALTA DE MADRIZ
DIRECTORA DE ESCUELA



LICDA. HADA MARIETA ALVARADO BETETA
DECANA