



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

CUAUTILÁN

**MARCA ANALÍTICA PARA LA EXTRACCIÓN,
IDENTIFICACIÓN Y CONFIRMACIÓN DE LA PRESENCIA
DE METABOLITOS DE DROGAS DE ABUSO (COCAÍNA
Y MARIHUANA) MAS COMUNES EN MUESTRAS DE
ORINA, MEDIANTE EL EQUIPO ANALÍTICO GC/MS.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

DANIEL ALBERTO SÁNCHEZ BRAVO

ASESORA:

Q.F.I. LETICIA ZÚÑIGA RAMÍREZ

ASESORES EXTERNOS:

I.B.Q.I. MOISÉS RAMÍREZ MEDINA

Q.F.B. MARCO ANTONIO VELA TAPIA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo excepcional

NOMBRE: SÁNCHEZ BRAVO

DANIEL ALBERTO

FECHA: 11 / JUN / 05

FIRMA: DANIEL ALBERTO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



ESTADO NACIONAL
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Marcha Analítica para la Extracción, Identificación y
Confirmación de la presencia de Metabolitos de Drogas de
Abuso (Cocaína y Marihuana) más comunes en Muestras de
Orina, Mediante el Equipo Analítico GC/MS
que presenta al pasante: Daniel Alberto Sánchez Bravo
con número de cuenta: 09608190-9 para obtener el título de:
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de Septiembre de 2005

PRESIDENTE	<u>QFI. Leticia Zúñiga Ramírez</u>	
VOCAL	<u>MFC. Ma. Eugenia R. Posada Galarza</u>	
SECRETARIO	<u>QFB. Ma. Virginia Oliva Arellano</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>QFB. Martha Patricia Campos Peón</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>QFI. Guadalupe Koizumi Castro</u>	

Bien dice Dios:

*La familia no se escoge, te la manda.
Con todo mi corazón Dios y pidiéndote perdón,
quiero atreverme a decirte:
Que te equivocaste conmigo un poco,
puesto que a mi consideración,
me has dejado escoger a la mejor
e inigualable familia del mundo.*

¿AGRADECIMIENTOS?

A quién o para qué

*Quien te ayuda, te apoya o te hace un favor
es desinteresadamente y no espera nada a cambio.*

Sólo agradezco a:

Dios (Jehová)

Jesucristo

Nuestra Madre (Virgen María)

A mi Madre, Beatriz Bravo Delgado

A mi Padre, Miguel Sánchez Domínguez

"Dos pedostatos que nadie podrá tumbar jamás para mí".

A mis Hermanos: Joel y Miguel

"Un orgullo para mí"

A nuestra bebé, Michelle, Sánchez Fajardo

"Una luz en nuestra vida"

A mi Novia

"Por tu gran cariño y apoyo"

A mi asesora: Z. F. I. Leticia Ramírez Zúñiga, por toda el apoyo brindado y su gran enseñanza para la culminación del presente.

A mis asesores externos, al I. B. Z. I. Moisés Ramírez Medina, por su confianza otorgada, la enseñanza para el trabajo y por su gran paciencia; y al Z. F. B. Marco Antonio Vela Tapia, por todo el apoyo brindado.

A mis colaboradores, Moisés Ramírez Medina, Jorge Morales Sánchez, Adriana Corrales Salinas, Roxana y Mary Núñez Orozco, María de los Ángeles Ruiz Ortiz, Pedro Iván Pérez Nori, María Luisa Sánchez Medina, Noé Urutia Pérez, y Juan José García Reséndiz, que son verdaderas personas quienes me apoyaron desinteresadamente para la realización del presente trabajo

A Gildardo Pérez Cruz e Isabel Pérez Torres, Director y Subdirectora del Laboratorio Nacional de Servicios Criminalísticos de la Dirección General de Coordinación de Servicios Policiales de la Procuraduría General de la República; quienes me permitieron y brindaron el apoyo para la utilización de sus instalaciones y equipo para culminar este proyecto.

A mis amigos que también son los de arriba

Salgado González Henry

Ocampo Bautista Gaby

Patlán Cadena Alejandro

Paris Cesar

García Alcántara Ángel

¿Esto es la vida real?

¿Es solo fantasía?

Atrapado en una resbaladilla (o tobogán, algo así)

Sin escape de la realidad

Abre los ojos

Voltea al cielo y mira

Solo soy un pobre chico

No necesito condolencias

Porque fácil vengo, fácil voy

Un poco erroba, un poco abajo

De cualquier modo el viento sopla

Nada realmente importa para mí..... para mí

Mamá, solo maté a un hombre

Puse un arma contra su cabeza

Jalé el gatillo y ahora está muerto

Mamá, la vida acaba de empezar

Pero ahora me voy y lo dejo todo

Mamá, no era mi intención hacerte llorar

Si no estoy de regreso mañana a esta hora

Sigue adelante, sigue adelante

Como si no importara nada

Muy tarde, mi hora ha llegado

Escalofríos me bajan por la espalda

El cuerpo duele todo el tiempo

Adiós a todos, me tengo que ir

Debo dejarlos a todos y enfrentar la verdad

Mamá, no quiero morir

A veces desearía no haber nacido por ningún motivo

Veo una pequeña silueta de un hombre

Rayos y truenos, me asustan mucho

Galileo figero, magnífico

Solo soy un pobre chico y nadie me quiere

Él es solo un pobre chico de una familia pobre

Perdóneme la vida por su monstruosidad

Fácil vengo, fácil voy

¿Van a dejarme ir?

Demonios, no!!

No te dejaremos ir

Déjenlo ir

Déjenme ir

Nunca me dejan ir

No, no, no, no, no, no, no

Oh, mama mía, mama mía, mama mía déjenme ir (o déjame ir, no sé)

Bezebut ha puesto un demonio a mi lado

Añ que crees que puedes plantarme y escupirme en el ojo

Añ que crees que puedes amarme y dejarme morir

Oh, bebé. No puedes hacerme esto bebé

Sólo tengo que salir

Sólo tengo que salir de aquí

Nada realmente importa

Cualquiera lo puede ver

Nada realmente importa

Nada realmente importa... para mí

De cualquier modo el viento sopla

ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN	1
2. CLASIFICACIÓN DE LAS DROGAS QUE PRODUCEN DEPENDENCIA	2
Una clasificación sugerida por la OMS.	
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1. COCAÍNA	3
3.1.1. Breve historia	3
3.1.2. Características generales y estructura	4
3.1.2.1. Nombre químico o sinónimo	
3.1.2.2. Fórmula empírica	
3.1.2.3. Peso molecular	
3.1.2.4. Aplicaciones o usos	
3.1.2.5. Composición química de la cocaína	
3.1.2.6. Presentación	
3.1.2.7. Estructura	
3.1.3. Dosificación	6
3.1.4. Dato curioso	7
3.1.5. Farmacocinética	8
3.1.6. Farmacodinámica	10
3.1.7. Efectos farmacológicos	11
3.1.8. Toxicidad	11
3.1.9. Psicotoxicidad	12
3.1.10. Tolerancia	12
3.1.11. Técnicas de identificación para cocaína	13
3.1.12. Método de identificación de el metabolito de la cocaína en orina (GC/MS).	15
3.1.12.1. Espectro de GC/MS.	
3.2. MARIHUANA	18
3.2.1. Breve historia	18
3.2.2. Características generales y estructura	20
3.2.2.1. Nombre químico o sinónimo	
3.2.2.2. Composición química	
3.2.2.3. Aplicaciones o usos	
3.2.2.4. Características morfológicas de la planta	
3.2.2.5. Presentación o apariencia	
3.2.2.6. Estructura del Δ -9-THC	
3.2.3. Dosificación	23
3.2.4. Dato curioso	23
3.2.5. Farmacocinética	24
3.2.6. Farmacodinámica	26
3.2.7. Efectos farmacológicos	27
3.2.8. Sensaciones físicas	28

3.2.9. Psicotoxicidad	29
3.2.10. Tolerancia	29
3.2.11. Técnicas de identificación para marihuana	29
3.2.12. Método de identificación de el metabolito de la marihuana en orina (GC/MS).	30
3.2.12.1. Espectro de GC/MS	
3.3. BENZODIAZEPINAS	33
3.3.1. Breve historia	33
3.3.2. Características generales y estructura	34
3.3.2.1. Aplicaciones o usos	
3.3.2.2. Presentación	
3.3.2.3. Composición	
3.3.3. Farmacocinética	35
3.3.4. Farmacodinámica	37
3.3.5. Efectos farmacológicos	37
3.3.6. Técnicas de identificación para benzodiazepinas	39
3.3.7. Método de identificación de el metabolito de las benzodiazepinas en orina (oxacepam). (GC/MS).	40
3.3.7.1. Espectro de GC/MS	
3.4. ANFETAMINAS Y META-ANFETAMINAS	43
3.4.1. Breve historia de anfetaminas	43
Breve historia de meta-anfetamina	43
3.4.2. Características generales y estructura	46
3.4.2.1. Nombre químico o sinónimo	
3.4.2.2. Fórmula empírica	
3.4.2.3. Peso molecular	
3.4.2.4. Aplicaciones o usos	
3.4.2.5. Composición química.	
3.4.2.6. Usos terapéuticos	
3.4.2.7. Dosificación	
3.4.2.8. Presentación	
3.4.2.9. Estructuras	
3.4.3. Farmacocinética	48
3.4.4. Farmacodinámica	49
3.4.5. Efectos farmacológicos (psicológicos y fisiológicos)	49
3.4.6. Toxicidad	50
3.4.7. Psicotoxicidad	50
3.4.8. Método de identificación de el metabolito de anfetaminas y meta-anfetaminas en orina (GC/MS).	50
3.4.8.1. Espectros de GC/MS.	

3.5. OPIO U OPIÁCEOS	54
3.5.1. Breve historia	54
3.5.2. Características generales y estructura	57
3.5.2.1. Nombre químico o sinónimo	
3.5.2.2. Aplicaciones	
3.5.2.3. Composición química del opio	
3.5.2.4. Presentación de la heroína	
3.5.2.4. Estructura	
3.5.3. Dosificación	58
3.5.4. Farmacocinética	59
3.5.5. Farmacodinámica	60
3.5.6. Toxicidad	60
3.5.7. Efectos psicológicos	61
3.5.8. Tolerancia	61
3.5.9. Técnicas de identificación para heroína	62
3.5.10. Método de identificación de el metabolito de la heroína en orina (GC/MS).	62
3.5.10.1. Espectro de GC/MS	
3.6. FUNDAMENTO Y FUNCIONES DEL EQUIPO ANALÍTICO (GC/MS).	64
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL	74
5. METODOLOGÍA	79
6. CARACTERÍSTICAS DE LA RAMPA	85
7. RESULTADOS	87
8. DISCUSIONES	93
9. CONCLUSIONES	97
10. BIBLIOGRAFÍA	98
11. ABREVIATURAS	100

♦INDICE DE TABLAS Y CUADROS

Tabla 1. Formas de abuso de las diferentes presentaciones de la cocaína.	9
Tabla 2. Descripción entre opiáceos y opioides.	56
Tabla 3. MS Scan Parameters del equipo utilizado	85
Tabla 4. Oven (temperatura)	85
Cuadro 1. Pruebas presuntivas para cocaína (coloración y precipitación).	13
Cuadro 2. Técnicas de identificación de <i>Cannabis Sativa L.</i>	29
Cuadro 3. Pruebas presuntivas para benzodiazepinas.	39
Cuadro 4. Pruebas presuntivas para opio.	62
Cuadro 5. Resultado de las extracciones	88

♦ Cuadro: compuesto por letras.

Tablas: compuesto por letras y números.

◆ÍNDICE DE ESQUEMAS Y FIGURAS.

Esquema 1. Fragmentación de la Benzoilecgonina en el Espectro de Masas.	16
Esquema 2. Biotransformación del Δ -9-THC.	25
Esquema 3. Farmacodinámica del THC.	26
Esquema 4. Proceso metabólico del diazepam.	38
Esquema 5. Des-ionización de la estructura molecular del Δ -9-THC/glicoronido.	95
Figura 1. Cocaína pasta o base.	5
Figura 2. Estructura química de la cocaína.	6
Figura 3. Accesorios para suministrar cocaína y realizar cortes.	7
Figura 4. Técnicas de coloración.	14
Figura 5. Estructura de la cocaína base-clorhidrato de cocaína.	14
Figura 6. Espectro del GC/MS (benzoilecgonina).	17
Figura 7. Características morfológicas de la planta.	21
Figura 7.1. <i>Cannabis sativa L.</i>	22
Figura 8. Estructura química de la biotransformación del Δ -9-THC.	23
Figura 9. Espectro del GC/MS (Δ -9-THC).	32

Figura 10. Estructura del diazepam	35
Figura 11. Espectro del GC/MS (oxacepam).	42
Figura 12. Presentación de anfetaminas.	45
Figura 13. Estructura química de la anfetamina & meta-anfetamina	47
Figura 14. Espectro del GC/MS (anfetaminas).	52
Figura 15. Espectro del GC/MS (meta-anfetaminas).	53
Figura 16. Flor de la amapola.	55
Figura 17. Estructura química de la morfina y codeína.	58
Figura 18. Utensilios utilizados y presentación de la heroína.	59
Figura 19. Espectro del GC/MS (morfina).	63
Figura 20. Equipo Analítico: GC/MS.	64
Figura 21. Espectro de masas.	68
Figura 22. Cuadrupolo.	69
Figura 23. Función sinusoidal.	69
Figura 24. Grafico de diseño óptico para iones.	70
Figura 25. Ión golpea el primer dínodo.	72
Figura 26. Ión abandona el cuadrupolo y golpea el primer sínodo.	73
Figura 27. Equipo utilizado (del Laboratorio de la PGR).	78
Figura 28. Estructura del Δ -9-THC y su metabolito, para su eliminación en la orina.	83

♦Figura 29. Grafico de apreciación de la abundancia con respecto al número de extracciones.	89
Figura 30. Espectro del CG/MS para los dos metabolitos en una misma muestra de orina.	91

♦ Figura: forma representativa de un hombre animal u objeto limitado por líneas o superficies.
Esquema: representación grafica y simbólica de las cosas atendiendo solamente a sus líneas o caracteres mas significativos.

RESUMEN

Año 2005. Siglo XXI

¿Nuestra humanidad es regida por las drogas?

Reportes recientes revelan una sociedad llena de violencia, muerte (asesinatos, suicidios, accidentes), robos, corrupción; en resumen un mundo decadente.

Las drogas se pueden definir según la OMS y Enciclopedia Multimedia Encarta, : como toda sustancia química de origen natural o sintético, que afectan las funciones del organismo vivo cuyo fin es afectar las funciones del Sistema Nervioso Central, en el caso de los psicoactivos o modificar el estado anímico, inhibir el dolor o alterar las percepciones sensoriales. ^{5,40}

Entre las drogas más comunes y que han tenido un mayor auge en la sociedad, tenemos a todas aquellas que se han denominado como drogas de abuso; entre las que encontramos a: cocaína, marihuana, benzodiazepinas, anfetaminas, meta-anfetaminas y opiáceos.

Pero, ¿cómo y dónde poder identificar si las personas consumen estas drogas? Partiendo de esta interrogante, surge la necesidad de incrementar la eficiencia de los métodos analíticos (determinando las condiciones óptimas de trabajo) ya establecidos para la identificación de los metabolitos de estas drogas; también, el implementar el uso de nuevas tecnologías y de distintos solventes que nos ayuden a optimizar estas técnicas de identificación, disminuyendo con esto el tiempo de trabajo y los costos. ¹³

Con este trabajo se desarrolló un método analítico con una gran eficiencia para la identificación y confirmación de la presencia de los metabolitos de las drogas de abuso más comunes en orina; manejándose en este trabajo los metabolitos de la cocaína y la marihuana.

CLASIFICACION DE LAS DROGAS QUE PRODUCEN DEPENDENCIA

Una clasificación que sigue siendo útil es la sugerida por la OMS en 1975.⁴⁰

Grupo 1° (opiáceos). Opio y derivados naturales, semisintéticos o sintéticos. Morfina, heroína, metadona, etc.

Grupo 2° (psicodepresores). Barbitúricos, benzodiazepinas y análogos.

Grupo 3°. Alcohol etílico.

Grupo 4° (psicoestimulantes mayores). Cocaína y derivados (crack), anfetaminas y derivados, katina o norpseudofedrina, etc.

Grupo 5° (Alucinógenos). LSD, mescalina, psilocibina y otros).

Grupo 6° Cannabis y sus derivados (marihuana, hachís).

Grupo 7° (sustancias volátiles). Solventes volátiles como tuoleno, acetona, gasolina, éter, óxido nítrico, etc.

Grupo 8° (psicoestimulantes menores), tabaco, infusiones con caféinas, colas, etc.

Grupo 9° Drogas de diseño.

3. MARCO TEÓRICO

DROGAS DE ABUSO

3.1. COCAÍNA^{32, 36}

- El nombre de coca parece que deriva de la palabra inca *Kohka*, que significa "árbol por excelencia".¹
- La cocaína se obtiene de las hojas de *Erythroxylon coca*, árboles indígenas de Bolivia y Perú
- En 1855 un químico alemán de apellido Gaedcke aísla de las hojas de coca un alcaloide al que llama *erythroxyline* por el nombre genérico de la planta.
- Estimulantes: Efecto de incrementar el estado de alerta y actividad. Producen tolerancia, gran dependencia psicológica y un grado mediano de dependencia física. Anfetaminas, Nicotina, Cafeína, Cocaína.⁸

3.1.1 BREVE HISTORIA.

Hasta mediados del siglo XIX la coca y sus derivados gozan de gran prestigio como estimulantes de uso terapéutico. Tiempo después, esos mismos beneficios comienzan a percibirse como "riesgos seductores" que acabarían siendo una "amenaza para la sociedad". De cualquier forma y sea cual sea la perspectiva desde la que se mire, sembrar coca y comerciar cocaína (coca o perica) y otros de sus derivados siempre han sido actividades rentables.

La cocaína, un alcaloide que se extrae de las hojas del arbusto de la coca el cual se conoce con el nombre científico de *Erythroxylum coca* y se encuentra principalmente en América del Sur. En Medicina se empleaba como anestésico en cirugía de la nariz y de la garganta y como vasoconstrictor para disminuir el sangrado en las intervenciones quirúrgicas.¹

El abuso de esta sustancia creció mucho en la década de 1970 y es responsable de un gran número de alteraciones fisiológicas y psicológicas. El crack es un tipo de cocaína sintética muy adictiva que surgió en la década de 1930 como tratamiento de los catarros y la fiebre del heno y más tarde se conoció su acción sobre el sistema nervioso. Durante cierto tiempo se emplearon como adelgazantes. Su única aplicación médica hoy es el tratamiento de la narcolepsia, una alteración del sueño caracterizada por episodios diurnos de sueño incontrolables por el paciente y en el tratamiento de la hiperactividad infantil.

Los síndromes de retiro son apatía, largos períodos de sueño, irritabilidad, depresión y desorientación.^{2,3}

3.1.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y ESTRUCTURA¹⁵

3.1.2.1. **Nombre químico o sinónimos:** Metil benzoilecgonina, Neurocaína; Clorhidrato de cocaína, Cocaína base, Crack, entre otros menos comunes.

3.1.2.2. **Formula empírica:** $C_{17}H_{21}NO_4$.

3.1.2.3. **Peso molecular:** 303.4.

3.1.2.4. **Aplicaciones o Usos:** Médicos y laboratorios recomendaban la cocaína como un "buen alimento para los nervios" destinado a combatir hábitos de alcohol, opio o morfina, e incluso para "conceder sempiterna vitalidad. En aplicación externa, en forma de pomada o ungüento es un vasoconstrictor que corta hemorragias e inhibe la transmisión de impulsos en las fibras nerviosas. Debido a esto último se convirtió en el primer anestésico local de la cirugía moderna; se usa en intervenciones oftálmicas y de otorrinolaringología hasta antes del descubrimiento de nuevos anestésicos. Mientras que otros derivados de la coca como la benzocaína, la lidocaína y la procaína se comercializan. En 1884 Sigmund Freud empieza a recetar la cocaína en pequeñas dosis como antidepresivo.^{3, 6, 8, 14}

3.1.2.5. Composición química de la cocaína: La cocaína es una benzoilmetil ecgonina. La ecgonina es una base amino alcohólica íntimamente relacionada con la tropina. La cocaína es así un éster de ácido benzoico y una base que contiene nitrógeno.

Las hojas del arbusto de la coca tienen la presencia de materias minerales, taninos, y ácidos clorogénicos; flavonoides y pequeñas cantidades de aceites esenciales.

El alcaloide más importante y abundante (30-40%) es la cocaína o metilbenzoilecgonina, éster del 3-(*-*hidroxitropano o pseudotropanol) y ácido benzoico.

La benzoilecgonina es muy soluble en agua caliente, en etanol, insoluble en éter; soluble en diluyentes ácidos y alcalinos.^{1, 21, 32}

3.1.2.6. Presentación: La cocaína, se encuentra como un polvo blanco y cristalino de sabor ligeramente amargo, en otras ocasiones como sustancia sólida beige. En presentación de cocaína base, se caracteriza por tener un 95% de pureza, rápida absorción y rápido aumento de los niveles plasmáticos.^{10, 41}



Figura 1. Cocaína pasta

3.1.2.7. Estructura:

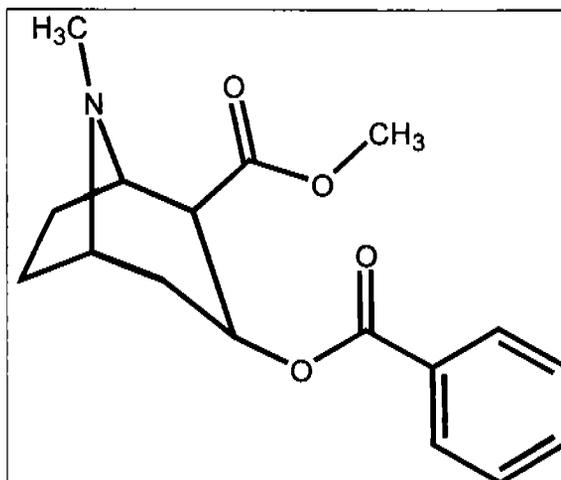


Figura 2. Estructura química de la cocaína.

3.1.3. DOSIFICACIÓN

Las dosis bajas de cocaína pura rondan entre los 50 y los 100 mg; las medias entre 150 y 200 mg; y las altas entre 250 y 500 mg. En consumidores no habituados, sobrepasar el gramo puede ser letal. Principalmente por vía nasal (mucosas), aunque también se inhala o se aplica por vía oral, vía endovenosa, vía intramuscular, vía sublingual, gingival (encías) o parenteral; teniendo también como vías de administración aun pareciendo insólito, la vía genital, ocular y rectal. Actualmente se ha desarrollado una presentación de esta droga conocida como crack que puede ser fumada o inyectada. Provoca euforia, excitación, incremento del ritmo cardiaco y la presión arterial, insomnio y pérdida del apetito. Los efectos de las sobredosis son: agitación, incremento en la temperatura corporal, alucinaciones, convulsiones y posible muerte.^{27, 23}

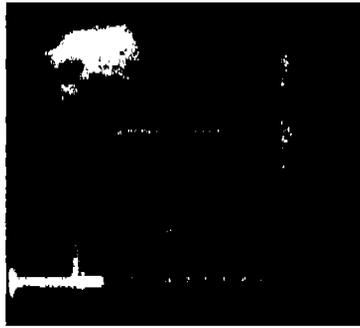


Figura 3. Accesorios para suministrar cocaína y realizar cortes.⁴¹

3.1.4. DATO CURIOSO.

- Las soluciones de cocaína utilizadas en clínica (anestesia tópica) variaban del 1 al 10%.
- Portar menos de 2 g de **CLORHIDRATO DE COCAÍNA** o 2 g de **SULFATO DE COCAÍNA** se considera como consumo personal y no se aplica ninguna sanción de acuerdo con leyes y normas aplicadas para la República Mexicana. Una cantidad mayor se considera como tráfico y sí está sujeta a penalización. Una dosis media consignada como consumo personal es de 150 y 200 mg de clorhidrato de cocaína.
- En 1885 un farmacéutico americano, J.S. Pemberton del {french wine of coca, ideal tonic}, imitación de una preparación comercializada, el Vino Mariani. Pemberton, cambio la fórmula, reemplazo el alcohol por extracto de cola y sustituyendo el agua natural por agua gaseosa: había nacido la Coca Cola ® (A.G. Candler, 1892) que sólo faltaba suprimir la COCAÍNA de la fórmula inicial (1903).^{37,39}

3.1.5. FARMACOCINÉTICA.

Siendo una base débil con un pka de 8.6 aproximadamente. En su forma básica, tanto en sangre como en el humo, llega a los pulmones, la cocaína atraviesa las membranas celulares en forma rápida y eficaz. Atraviesa la barrera hematoencefálica.^{10, 15}

Absorción: Hay diferentes formas, es absorbida rápidamente por cualquier vía; teniendo una vida media aproximada de una (1) hora. Teniendo en consideración que los efectos se correlacionan con la vía de administración. Tabla. 1.

Aspirando por una fosa nasal el polvo de cocaína, también puede fumarse "en base" e inyectarse; inhalada se requieren algunos minutos para experimentar las primeras sensaciones que suelen durar aproximadamente 40 minutos; si se inyecta o se fuma el efecto es más rápido y más intenso pero dura menos tiempo. Tabla. 1

- Las vías de acceso más comunes son por inhalación o intravenosa.
- La vasoconstricción que produce limita la rapidez de absorción.
- Se absorbe en todos los sitios en los que se aplica incluyendo las mucosas.
- Cuando se administra por vía bucal se hidroliza y pierde efectividad.

Distribución: La cocaína se biotransforma en hígado y una vez que la cocaína fue administrada, es distribuida ampliamente por todo el organismo; variando el volumen de distribución de 1.5 a 2 L/kg (57% por vía oral y aproximadamente 70% fumada).

Biotransformación: La cocaína es metabolizada por la enzima: colinesterasa plasmática y hepática. Algunos metabolitos son biotransformados, dependiendo la vía:

Fumada, la droga se polimeriza a una serie de compuestos químicos siendo el principal metabolito la anhidroecgonina metil ester (AEME), conocida también como metil ecgonidina.⁴

Mientras que cuando es esnifada o aplicada por vía intravenosa el principal metabolito es la BENZOILECGONINA.¹⁵

Eliminación: Aunque parte se excreta inalterada por orina, otras por heces, uñas y pelo.

Sus metabolitos se eliminan principalmente en orina, pudiéndose detectar hasta 48 hrs. después del consumo, mientras que en pelo o uñas, su detección es de semanas o meses.^{4, 15}

Tabla I. FORMAS DE ABUSO.							
TIPO DE SUSTANCIA	CONCENTRACION DE COCAINA	VIA DE ADMINISTRACION	PORCENT EN PLASMA	VELOCIDAD APARICION DE EFECTOS	CONC. MAXIMA PLASMA	DURACION EFECTOS	DESARROLLO DEPENDENCIA
HOJAS DE COCA	0.5 - 1.5%	Mascado infusión oral	20 - 30%	LENTA	60 Minutos	30- 60 Minutos	NO
CLORHID. COCAINA	12 - 75%	tópica: ocular genital, intranasal (esnifar)	20 - 30%	RELATIV. RAPIDA	5-10 Minutos	30- 60 Minutos	SI LARGO PLAZO
CLORHID. COCAINA	12 - 75%	parenteral: endovenosa subcutanea, intramuscular.	100%	RAPIDA	30-45 Segundos	10-20 Minutos	SI CORTO PLAZO
PASTA DE COCA	40 - 85% (Sulfato de cocaína)	Fumada	70 - 80%	MUY RAPIDA	8-10 Segundos	5-10 Minutos	SI CORTO PLAZO
COCAINA BASE.	30 - 80% (alcaloide cocaína)	Inhalada-fumada	70 - 80%	MUY RAPIDA	8-10 Segundos	5-10 Minutos	SI CORTO PLAZO

Tabla 1. Formas de abuso de las diferentes presentaciones de la cocaína.³²

3.1.6. FARMACODINÁMICA.

Es un potente inhibidor de la recaptación de tipo 1 de noradrenalina, dopamina y serotonina, lo que facilita la acumulación de esos neurotransmisores en la hendidura sináptica; debido a que la cocaína se comporta como una amina simpaticomimética de acción indirecta.^{2, 3}

Si, aumenta la concentración de noradrenalina = aumenta presión arterial, dilatación pupilar, sudoración, temblor, etc.

A nivel somático, el consumo de cocaína ocasiona: dilatación de pupilas, disminución de la sensibilidad al frío, relajamiento muscular, aumento en la presión sanguínea y aceleración de la frecuencia cardiaca. Como resultado de la acción supresora en los centros reguladores de apetito en el cerebro, también se experimenta falta de apetencia. Como la cocaína es un vasoconstrictor, su inhalación constante provoca la degeneración del tejido local dañando la membrana mucosa.

En caso de ser fumada habitualmente, ocasiona infecciones en las vías respiratorias e incluso puede llegar a provocar un edema pulmonar. Los síntomas de abuso comienzan pareciéndose a los de un resfriado crónico combinado con insomnio y pérdida de peso. En casos graves de abuso, se experimentan mareos, vómitos, irritabilidad y alucinaciones con temas recurrentes como insectos que circulan bajo la piel; además de perforación del tabique nasal en caso de inhalarla, infecciones cutáneas en caso de inyectarla o hemorragias pulmonares en caso de fumarla. No se han detectado daños genéticos en bebés cuyas madres usan cocaína habitualmente.³²

3.1.7. EFECTOS FARMACOLÓGICOS^{1, 6, 12}

Acciones y patrones de uso en los cuales presenta efectos subjetivos de acuerdo a la vía de administración.

En dosis moderada puede producir:

- Mejoría de ánimo
- Aumento de energía
- Estado de alerta
- Disminución del apetito
- Ansiedad
- Locuacidad
- Irritabilidad
- Insomnio

3.1.8. TOXICIDAD^{21, 13}

La cocaína puede producir toxicidad grave, a veces en forma inesperada; o una intoxicación aguda que se refleja por una hiperactividad de los sistemas.

- Arritmias cardíacas
- Isquemia miocárdicas
- Infarto
- Miocarditis
- Insuficiencia cardíaca congestiva
- Coagulación intravascular indeterminada.
- Depresión respiratoria
- Espasmo cerebro vascular isquémico
- Rabdomiolisis con insuficiencia renal aguda
- Convulsiones
- Isquemia cerebral (infarto cerebral y déficit isquémico transitorio).

3.1.9. PSICOTOXICIDAD

- Aumento de la ansiedad
- Ideación paranoide
- Alucinaciones principalmente visuales
- Trastornos de la percepción y pseudoalucinaciones

3.1.10. TOLERANCIA ⁴⁵

- Desarrollo de la tolerancia
- Se desarrolla tolerancia a algunos de los efectos centrales de la cocaína.
- Hay tolerancia al "arrebato" de euforia.
- Pequeña tolerancia a los efectos sobre la frecuencia cardiaca y presión arterial.
- Es poco probable la tolerancia a las alteraciones cardiovasculares.

3.1.11. TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN PARA COCAÍNA.^{10, 41}

Para identificar cocaína se emplean las siguientes técnicas.

- Observación macroscópica aspecto (polvo blanco, beige, amarillento).
- Reacciones químicas.
- Reacción de Bouchardat.
- Reacción de Tiocianato de cobalto.
- Reacción de Scott (modificada) (la pasta y la cocaína base dan reacción negativa).
- Reacción de nitrato de plata.
- Cromatografía en capa fina.
- Espectrofotometría de infrarrojo.

CUADRO 1. PRUEBAS PRESUNTIVAS PARA COCAÍNA (coloración y precipitación)^{10, 41}

REACTIVO	RESULTADO	GRUPO IDENTIFICADO
Tiocianato de cobalto	coloración azul	Caínas
Scout	Anillo azul	Caínas
Bouchardat	precipitado café parduzco	Alcaloides
Nitrato de plata	Precipitado blanco	Cloruros

Figura 4. Técnicas de coloración



Fuente: <http://www.pgr.com.mx>

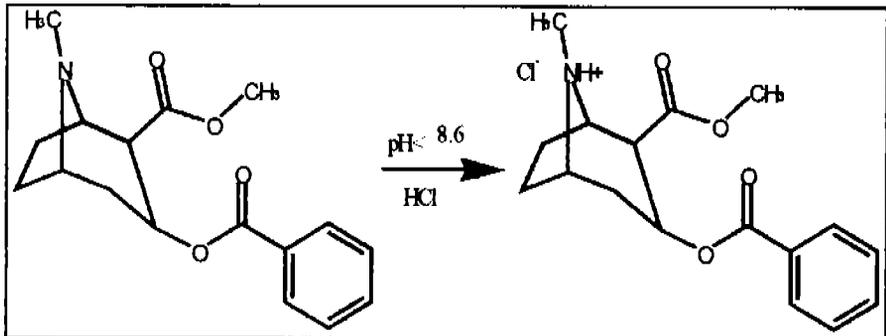


Figura. 5. Estructura de la cocaína base – clorhidrato de cocaína

3.1.12. MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN DE EL METABOLITO DE LA COCAÍNA EN ORINA (GC/MS).^{10, 15, 41, 4, 11 19}

Agitar muestra de orina:

- 1.- Tomar 5 ml de orina (agitar)
- 2.- Agregar 0.5-0.7 ml de Hidróxido de amonio (agitar)
- 3.- Agregar 5ml de la solución de cloroformo-etOH (70:30) ó (80:20) y agitar
extraer fase orgánica.
- 4.- Realizar dos extracciones más con la solución
- 5.- Realizar una última extracción con puro cloroformo (agitar)
- 6.- Juntar los extractos y centrifugar por 5min. a 4000 – 5000 rpm
- 7.- Llevar a sequedad el extracto bajo corriente de nitrógeno a 60-70 °C
- 8.- Derivatizar* con 40µl y agitar
- 9.- Incubar por 30 min. A 60 °C
- 10.- Agitar, dejar enfriar e inyectar 1µl al el equipo de GC/MS

* El derivatizante empleado es el BSTFA con 1% de Si (CH₃)₃ · Cl

Condiciones del equipo GC/MS

Temperatura de la columna:

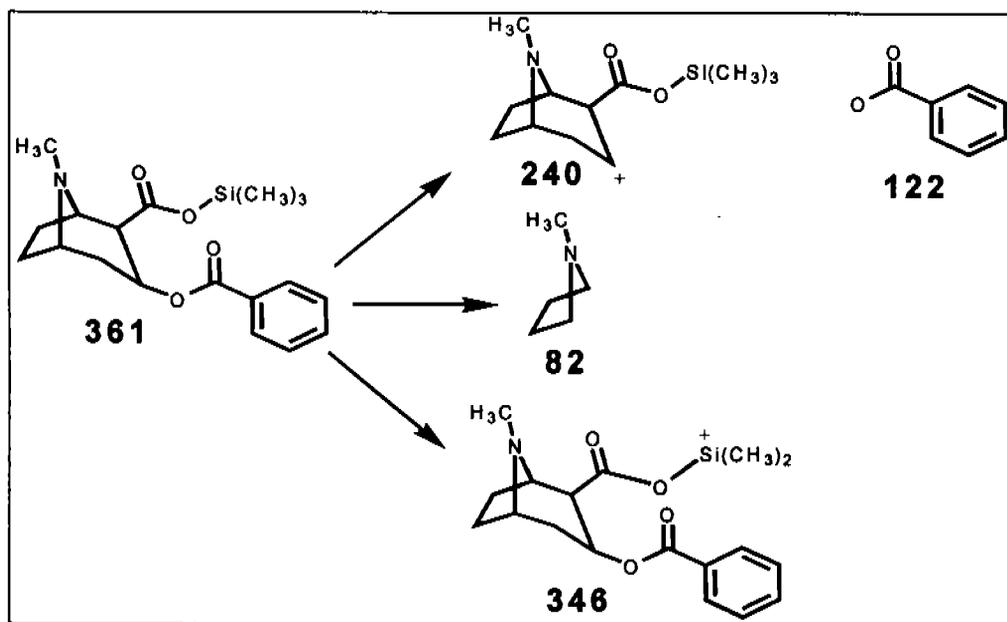
Temperatura inicial 120°C mantener por un minuto

Rampa:

15°C/2min hasta 280°C

Picos característicos (iones) que se ven en el Espectro de Masas:

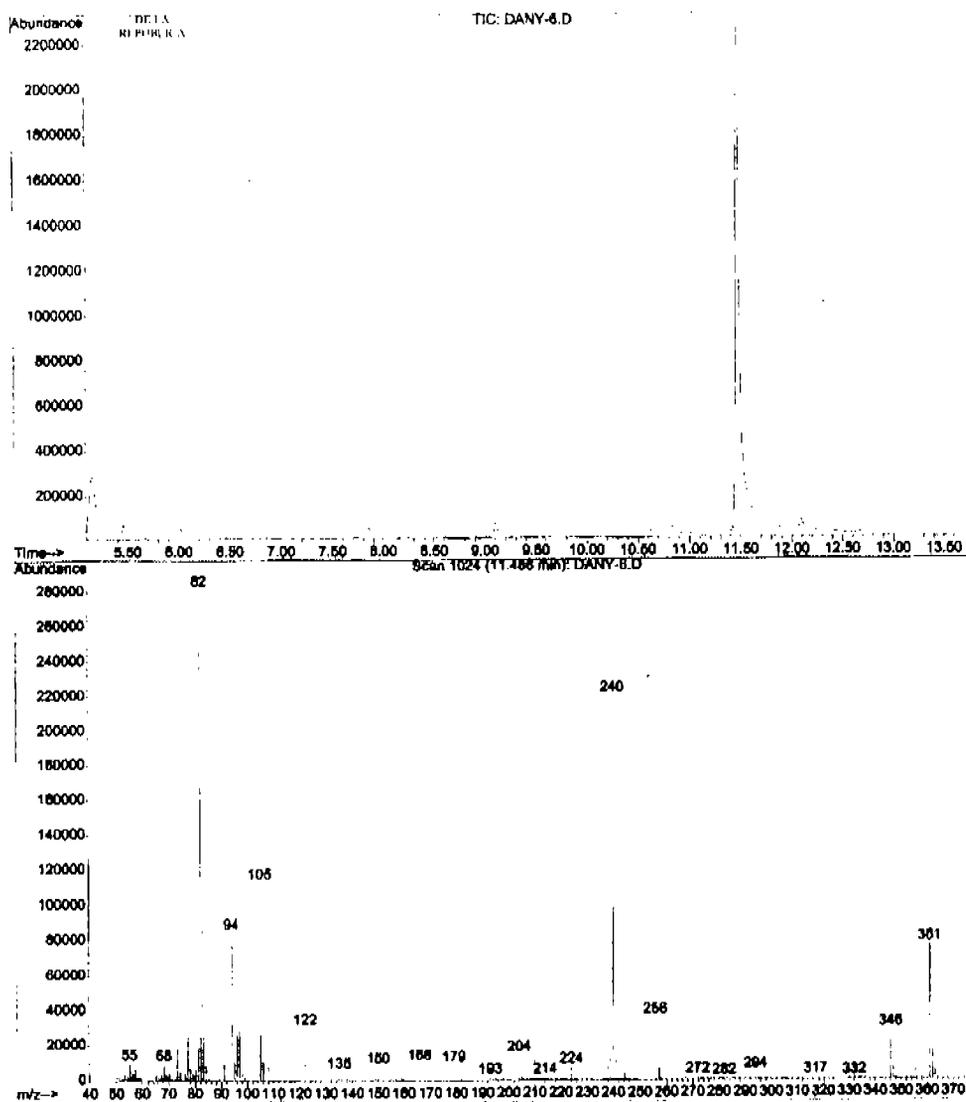
82, 240, 361 y 256.



Esquema 1 .Fragmentación de las benzoilecgonina derivatizada en el espectro de masa.

3.1.4.1. ESPECTRO DE GC/MS

Cromatograma de gases



Espectro de masas denotando los iones característicos del metabolito.

Figura 6. Espectro del GC/MS del metabolito de la cocaína derivatizado.

3.2. MARIHUANA.^{1, 21, 26}

- Las plantas pertenecientes al género *Cannabis* en cualquiera de sus tres variedades: *sativa*, *indica* y *rudelaris*. Las 3 variedades de *Cannabis* son plantas originarias de las planicies de Asia Central, difundida a todo el globo terráqueo gracias a la intervención humana.
- A causa de su propagación y adaptabilidad ambiental, la *Cannabis* tuvo un gran impacto en las expresiones de diversas culturas.
- Alucinógenos: Efecto de sensaciones, emociones, alucinaciones y cambios en la percepción; producen tolerancia y dependencia psicológica: Ácido D-lisérgico (LSD.), Marihuana, Mezcalina, Dimetyltriptamina (D.M.T.), Dimetoxo-4-Methilanfetamina (S.T.P.), Phencyclidine hydrochloride (P.C.P.)

3.2.1. BREVE HISTORIA.

Los asirios, conocían la hierba y se sabe que la usaban al menos desde el siglo IX A.C. como anestésico y para enfrentar el viaje a la muerte.

En los escritos sáncristos se habla de las "píldoras de la alegría" compuestas con goma de cáñamo y azúcar.

El *cannabis* ha sido utilizado profusamente desde la antigüedad en continentes como Asia y África para combatir diversos males Si bien su valor comercial y terapéutico no fue reconocido y utilizado en los Estados Unidos hasta principios del siglo XX, tras su prohibición en 1937, actualmente se debate la legalización debido a sus posibles usos medicinales.²⁶

La concentración de sustancias psicoactivas depende de la variedad de la *Cannabis*: la más psicoactivas son la *índica* y la *sativa* y la menos concentrada es la *rudelaris*.

Para aquellos sujetos que han fumado marihuana por primera o hasta quinta vez han reportado no sentir ningún cambio psicológico perceptible a pesar de sufrir los cambios físicos más inherentes, o sea, alteración cardiaca, sequedad bucal y enrojecimiento en los ojos.; algunos otros mencionan, risa incontrolable y sentimiento de bienestar así como periodos de introspección, además de sensación de extrañeza , ansiedad, paranoia o pánico, especialmente en casos en los que la droga se consume en un lugar público o bajo alguna amenaza potencial.^{26, 39}

El consumidor habitual deja de percibir estos efectos iniciales a medida que se acostumbra a estar en un estado modificado de conciencia y a partir de entonces las sensaciones que encuentra son bastante más subjetivas como introspección, creatividad, tranquilidad, relajación, percepción aumentada o especializada, etc. Sin que estos estados subjetivos dejen de depender como siempre de la circunstancias del consumo y de la cantidad de la marihuana.

A medida que los efectos van desapareciendo, suele surgir un gran apetito, preferentemente alimentos dulces. Weil y sus colaboradores comprobaron que la teoría de que se debía a una hipoglucemia provocada por la acción de los componentes activos de la hierba era un error, ya que ellos encontraron que no hay cambios de importancia en los valores sanguíneos del azúcar después de haber fumado *Cannabis*. Su nueva teoría sugiere que los alimentos dulces son oportunos para aumentar la glucosa disponible y mantener la oxigenación óptima.³⁹

3.2.2. CARACTERISICAS GENERALES Y ESTRUCTURA

3.2.2.1. **Nombre químico o sinónimos:** El nombre científico de la marihuana es *Cannabis sativa L.*; de esta planta se obtienen principalmente dos productos ilícitos: la droga como material vegetal y el hachís. Marihuana (*toque, mota, hierba, chora, grifa, chuby, churro, flexo, bacha, juanita, material*).^{15, 1, 21}

3.2.2.2. **Composición química:** Posee una mezcla compleja de más de 400 componentes, 60 de las cuales están relacionadas con el tetrahidrocanabinol Δ -9 THC. Son terpenofenoles que se clasifican en varios grupos de acuerdo con su estructura; de entre los que destacan por ser los principales, está el Δ -9-THC, CBD, CBN (cannabinol). Otros constituyentes: ácido cannadidiólico, cannabigerol, canabicromeno, entre otros mas., que es el principal psicoactivo de esta planta. También contiene otros cannabinoles como el Δ -8 que es el segundo activo; el resto de ellos son inactivos o activos débiles que tienen el potencial de aumentar su actividad junto con el THC.^{1, 21, 25}

La droga posee además flavonoides, aceite esencial, alcaloides derivados de la espermidina.

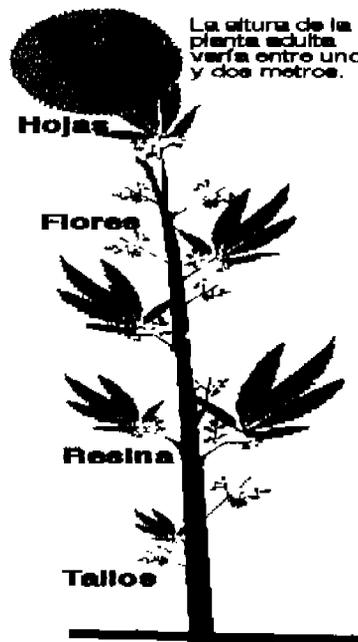
La semilla contiene un 30-35% de aceite fijo, de uso industrial.

Solubilidad: Un aceite viscoso prácticamente insoluble en agua, soluble en 1: 1 de etanol y 1:1 de acetona, soluble en solventes no polares.¹⁵

3.2.2.3. **Aplicaciones o Usos:** las semillas se usan como alimento para pájaros, al extraer el aceite, el cual tiene propiedades secantes y se usa en pinturas. La fibra tiene uso en la industria textil para fabricar cuerdas y alpargatas mientras que en la industria papelera para fabricar papel de fumar y bolsas de té.

3.2.2.4. Características morfológicas de la planta: La altura de la planta adulta varía de entre uno y dos metros, es principalmente dioica, a veces también monoica; sus hojas dentadas y en forma de palma abierta. Tiene el tallo estriado y las hojas son palmeadas, con 5-7 folíolos, las flores son verdosas y están agrupadas en racimos terminales.^{29, 1}

Figura 7. Características morfológicas de la planta



Fuente: <http://www.el-mundo.es/salud>

3.2.2.5. Presentación o apariencia: El *cannabis sativa* es fácilmente reconocible por sus hojas dentadas y en forma de palma abierta, muchos dicen que

es como hierba de olor semejante a orégano quemado; sustancia gomosa de color negro-café.

Figura 7.1. *Cannabis sativa* L.



Figura 26. *Cannabis sativa* L.

Referencia: 1

3.2.2.6. Estructura del Δ -9- THC

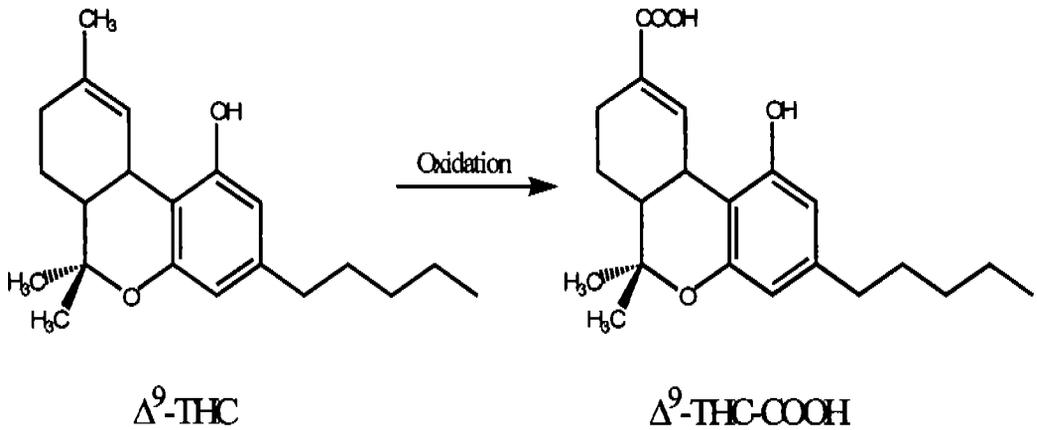


Figura 8. Estructura química de la biotransformación del Δ -9- THC

3.2.3. DOSIS

El producto herbáceo fumado en dosis de 0.2 a 0.5 gramos; produce euforia, inhibición relajada, incremento de apetito y pérdida de orientación.

3.2.4. DATO CURIOSO.

- Se quiere sugerir que la planta sea un medicamento (por sus principios activos).
- Se esta creando un inhalador para reducir problemas del sistema respiratorio. ^{29, 37}

3.2.5. FARMACOCINÉTICA.

Hay diferentes formas de absorción, durante años se ponía dérmicamente en todo el cuerpo o en donde estaba el dolor su preparación era sencilla y antigua por mencionarlo así, solamente se ponía la hoja en alcohol y como se dice se aplicaba una friega de alcohol con marihuana. En este apartado nos enfocaremos en la vía de absorción mas conocida y aplicada en nuestro tiempo, la fumada.^{10,41}

Absorción: Debido a su forma de administración, mediante el efecto de primer paso: llega a los alvéolos de los pulmones y posteriormente atraviesa las membranas celulares en forma rápida y eficaz. Atraviesa la barrera hematoencefálica.

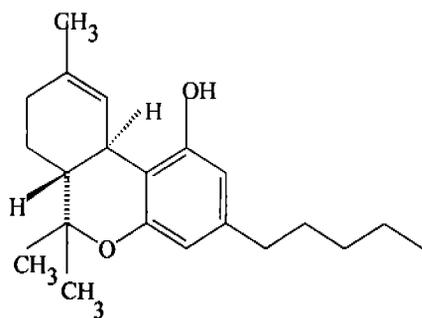
Distribución: Se distribuye rápidamente puesto que una vez pasado por pulmones entra a sangre (circulación general); biotransformándose en el hígado.

Biotransformación: (Ver esquema 1). Biotransformación del Δ -9-THC que se lleva a cabo en pulmones e hígado. El Δ -9 THC llega a los alvéolos posteriormente una vez en sangre, este se fija a proteínas de la sangre, llega a hígado y sufre un proceso de biotransformación de fase 1 convirtiéndose en Δ -9-11-carboxiTHC; este a su vez sufre otra biotransformación de reacción de fase 2 en donde se enlaza al Ac. Glucoronido para su eliminación.^{6, 10, 29}

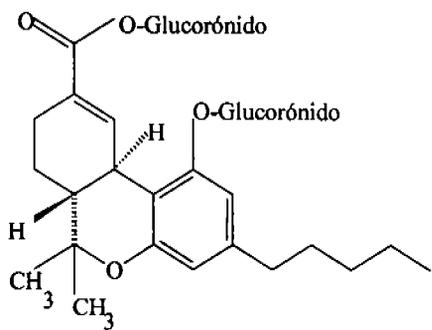
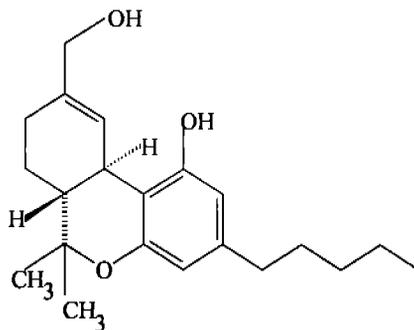
Eliminación: Siendo una sal orgánica polar, es soluble en agua o mejor dicho en este caso, se solubiliza en la orina. Es así como puede ser más fácilmente eliminada por filtración glomerular y secreción tubular en riñón. Cuando es eliminación renal (filtración glomerular): el intestino grueso absorbe al 11-carboxi-THC-glucoronido, en donde se hidroliza nuevamente y se reabsorbe (absorción entero hepática) y va a sangre.⁴

Otra se acumula en tejido adiposos (los metabolitos de la marihuana son lipofílicos).

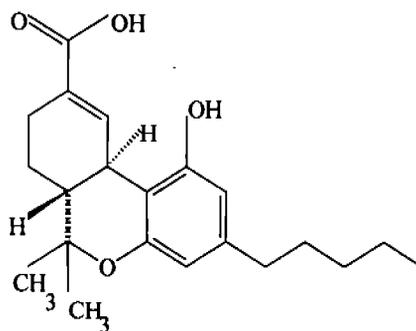
Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC)



11-Hidroxi- Δ^9 -THC



11-Nor-9-carboxi- Δ^9 -THC- mono-/diglucoronido



11-Nor-9-carboxi- Δ^9 -THC

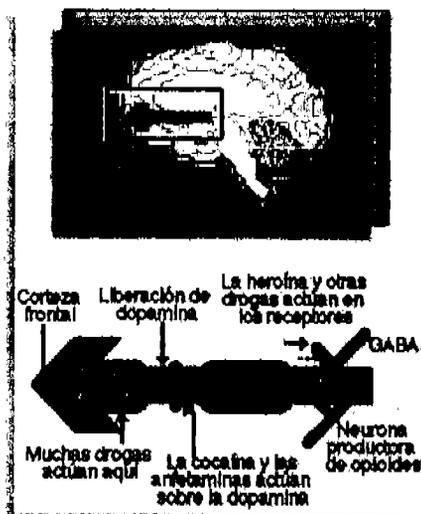
Esquema 2. Biotransformación del Δ^9 -THC

3.2.6. FARMAODINÁMICA

Uno de los órganos que se ve más afectado o en el que tiene mayor acción el THC es el cerebro:

En el cerebro, el THC activa neuroreceptores del tipo de la dopamina que ponen en marcha en el sistema límbico respuestas cerebrales de las consideradas de «recompensa». El Tetrahydrocannabinol (THC), es el compuesto activo que produce varios tipos de efectos en el cuerpo humano.²⁹

Esquema 3. Farmacodinámica del THC



Fuente: <http://www.el-mundo.es/salud>

La marihuana actúa sobre el hipotálamo. Este punto es el centro neurálgico que segrega hormonas a la hipófisis y controla el apetito.

3.2.7. EFECTOS FARMACOLÓGICOS: ^{2,3}

Una sobredosis produce:

- Fatiga
- Paranoia
- Posible psicosis.

Los síntomas de retiro pueden ser:

- Insomnio,
- Hiperactividad
- Pérdida ocasional del apetito.

La marihuana previene ataques epilépticos en algunos pacientes., es psicoactivo, esto quiere decir que afecta a la mente

Posibles daños al Sistema Nervioso por las sustancias usadas para su cultivo:

- Síndrome de desmotivación.
- Disminución de la capacidad creativa e intelectual.
- Esterilidad en el hombre.
- Trastornos en el ritmo ovulatorio de la mujer.
- Factor de riesgo para cáncer 8 veces superior al del tabaco

3.2.8. SENSACIONES FÍSICAS

- Pérdida parcial de la sensación de tiempo
- Relax (relajación) y tranquilidad
- Disminución de la ansiedad
- Aumento leve de la libido
- Desinhibición

3.2.9. PSICOTOXICIDAD:

Los efectos psicológicos no son fáciles de describir, ya que en sí, la intoxicación con *cannabis* tiene diferentes síntomas y son de carácter impredecible. Cada individuo tiene una experiencia diferente en cada ocasión que la utiliza. Tomando esto en consideración, sólo es posible mencionar algunos aspectos generales que aparecen como constantes en varias investigaciones científicas:

- Aumento agudeza visual
- Aumento en el sentido táctil
- Aumento en el sentido gustativo
- Aumento en el sentido auditivo

En dosis bajas:

Suele experimentarse además de los efectos antes mencionados.

- Un descenso considerable en el nivel de atención
- Una sensación de conciencia personal más marcada.

En dosis medias los cambios son más visibles.

En dosis altas pueden producirse:

- Ilusiones visuales
- Lasicitud
- Somnolencia que culminan en un sueño profundo.

3.2.10. TOLERANCIA:

Se ha reportado que produce tolerancia y además una ligera dependencia física.

3.2.11. TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN DE CANNABIS SATIVA L.^{10, 15, 41}

- Observación microscópica
- Reacciones químicas:
 - Reacción de Duquenois modificada
 - Reacción de O-Dianisidina (azul rápido b)
 - Reacción de Beam

CUADRO 2. TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN DE *CANNABIS SATIVA L.*
(coloración e identificación)

REACTIVO	RESULTADO	GRUPO IDENTIFICADO
Observación al microscopio	Tricomas	-
Duquenois	anillo violeta/azul	Δ -9 - THC
Ortodianisidina	coloración roja	Δ -9 - THC

3.2.12. MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN DEL METABOLITO EN ORINA (GC/MS). 4, 10, 11, 15, 19, 41

Agitar muestra de orina:

1.- Tomar 5 ml de orina (agitar), centrifugar 5 min/3000rpm

2.- Agregar 1ml de KOH (10N) (agitar)

3.- Incubar 25 min a 65°C

El objetivo de la incubación es el romper el enlace entre el ácido glucorónido con el delta-9-THC.

4.- Agitar por 5 min aproximadamente y dejar enfriar a temperatura ambiente

5.- Agregar 2ml de ácido acético glacial, agitar por 5 seg. aprox. y regular pH (4 +/- 0.5)

6.- Agregar 2ml de la solución de n-heptano-acetato de etilo (80:20) y agitar por 5min y extraer fase orgánica.

7.- Realizar dos extracciones más con la solución

8.- Juntar los extractos y centrifugar por 10min. a 3000 rpm

9.- Llevar a sequedad el extracto bajo corriente de nitrógeno a 50-55°C

10.-Derivatizar con 40 µl y agitar

11.- Incubar por 30 min. A 70 °C

12.- Agitar, dejar enfriar e inyectar 1 µl.

Condiciones de la columna del cromatógrafo

Temperatura inicial 130°C mantener por un minuto

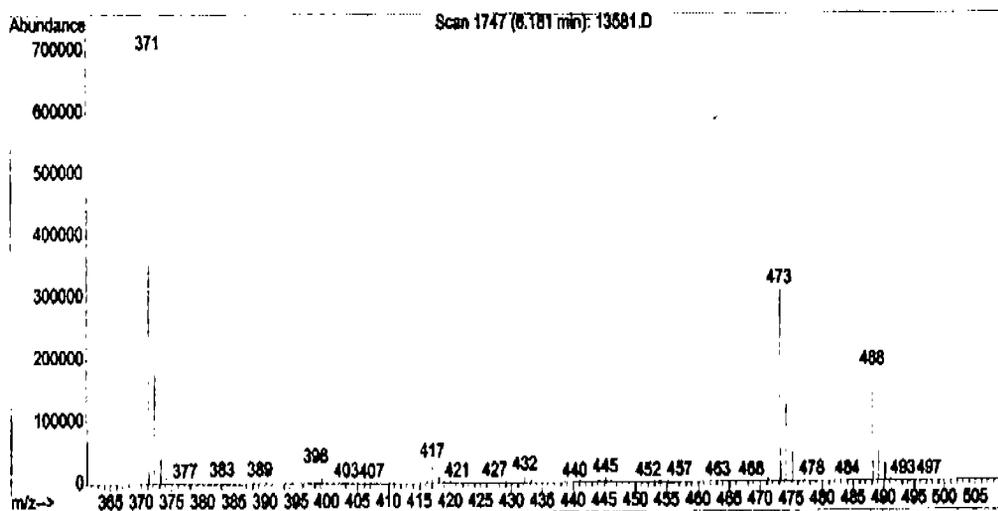
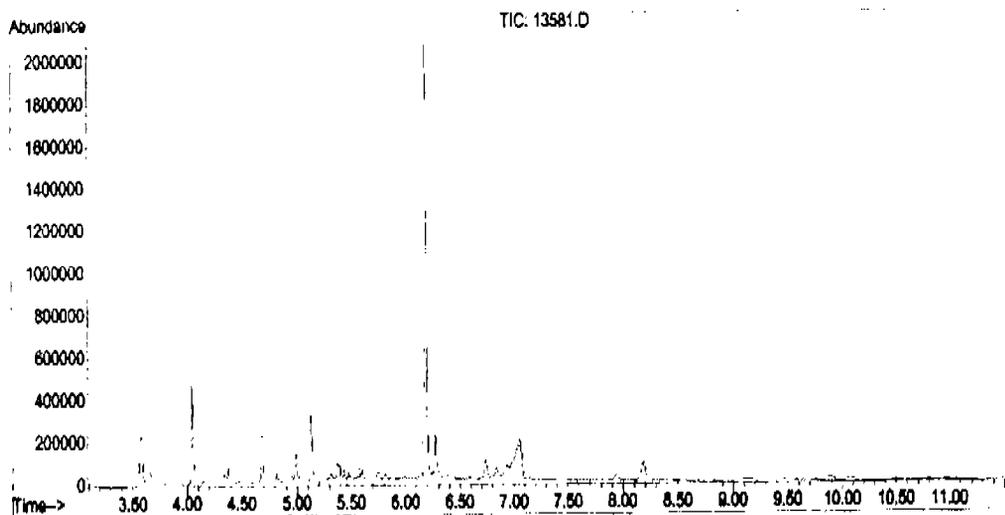
15°C/2min hasta 280°C

Picos característicos (iones) que se aprecian en el Espectro de Masas:

371, 473 y 488

3.2.13. ESPECTRO DEL GC/MS

Cromatograma de gases



Espectro de masas denotando los iones característicos del metabolito.

Figura 9. Espectro del GC/MS del metabolito de la Marihuana derivatizado.

3.2. BENZODIACEPINAS^{6,30}

- Randal en 1957 encontró un compuesto con propiedades potentes como miorrelajante, sedante y anticonvulsivo. Este descubrimiento fue fortuito. El compuesto fue el clordiazepóxido que se comercializó en 1960 (librium).
- Depresivas: efecto de reducir la ansiedad e inducir al sueño. Producen dependencia física y psicológica. Alcohol, barbitúricos, methaqualona, glutethimide; tranquilizantes menores como Diazepam (Valium), Chordiazepoxide (Librium); tranquilizantes mayores como Phenothiazinas (Largactil), Thioridazine (Mellarel), Thifluoperazine (Stelazine).¹⁵

3.3.1. BREVE HISTORIA

Randal en 1957 encontró un compuesto con propiedades potentes como miorrelajante, sedante y anticonvulsivo. Este descubrimiento fue fortuito. El compuesto fue el clordiazepóxido que se comercializó en 1960 (Librium).³⁰

Tres años más tarde se distribuyó el diazepam (Valium). Desde entonces la cifra de compuestos sintetizados supera fácilmente los 2.000 y en el mercado se hallan alrededor de 40.

El diazepam fue el fármaco más prescrito en el mundo durante un tiempo. Las benzodiazepinas están íntimamente relacionadas con el estrés psíquico y social, de ahí que la mayoría de las recetas son dadas por médicos diferentes a los psiquiatras.

3.3.2. CARACTERISTICAS GENERALES Y ESTRUCTURA. ^{15, 16, 40}

3.3.2.1. Aplicaciones:

- En el tratamiento del insomnio y la ansiedad
- Reduce el miedo
- Produce euforia

USOS:

- ◆ **Ansiedad:** se utiliza mucho como ansiolítico y como antiemético.
- ◆ **Miorrelajante:** en espasmos musculares.
- ◆ **En las reacciones extrapiramidales:** como anticonvulsivante.
- ◆ **En la disnea.**
- ◆ **En la mioclonía multifocal.**
- ◆ **En el insomnio:** existen otras benzodiazepinas más específicas.

3.3.2.2. Presentación: ⁵

Por lo general son comprimidos con diferentes formas farmacéuticas

- ◆ **VALIUM** (comprimidos de 5 y 10 mg, ampollas de 10 mg)
- ◆ **DIAZEPAM PRODES** (comprimidos de 2.5, 5, 10 y 25 mg, gotas, ampollas de 10 mg y supositorios de 5 y 10 mg)
- ◆ **STESOLID** (microenemas de 5 y 10 mg)

3.3.2.3. Composición:

Son sustancias liposolubles. Poseen un núcleo químico común, con los átomos de nitrógeno en las posiciones 1 y 4 del anillo B (1, 4- benzodiazepinas). Son tres anillos: A-B-C. Las benzodiazepinas con actividad farmacológica, tienen sus modificaciones básicamente en el anillo B. ¹⁵

3.3.2.4. Estructura del diazepam (más común):

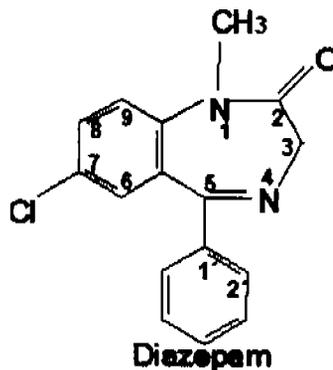


Figura 10. Estructura del diazepam.

3.3.3. FARMACOCINÉTICA

La farmacocinética es esencial para prescribir estos fármacos y seleccionar uno de ellos, cabe recordar: que son sustancias liposolubles. ⁴²

Absorción:

Se absorben oralmente en forma fácil (se reporta que todas las benzodiazepinas se absorben por completo por vía oral, excepto el cloracepato, que se descarboxila con rapidez en el jugo gástrico); por ser liposoluble la absorción por vía intramuscular es errática (a

excepción del loracepam). La administración intravenosa requiere que se haga lentamente, en casos de urgencia, valorando el riesgo de depresión respiratoria.

Distribución:

Circulan por sangre unidas a las proteínas plasmáticas entre 85 y 100%, atraviesan la barrera placentaria y la excretan por leche materna.

Biotransformación: Observar esquema: proceso de biotransformación del Dizepam

Es hepático. Es importante saber que la mayoría de las benzodiazepinas tienen metabolitos activos y la vida media de estos puede ser el doble de la sustancia de origen. La vida media se utiliza como criterio de elección y clasificación.^{42, 15}

Benzodiazepinas de acción larga: (más de 24 horas). Diazepam (Valium). Bromacepam (Lexotan), etc.

Benzodiazepinas de acción intermedia: (más o menos 10 horas). Loracepam (Ativan). Alprazolam (Xanax), etc.

Benzodiazepinas de acción corta: (menos de 5 horas). Triazolam (Somese). Midazolam (Dormicum), etc.

Eliminación:

La excreción es renal básicamente, un porcentaje pequeño se excreta por bilis. Con lo que respecta al metabolito activo de estas reacciones, se conjuga con ácido glucurónico y se elimina por la orina.²⁴

3.3.4. FARMACODINÁMICA. ^{30, 37, 41}

Son cuatro los efectos básicos: ansiolítico, anticonvulsivo, miorrelajante y sedante-hipnótico.

Mecanismo de acción. La acción principal de la benzodiazepina está relacionada con el GABA. El Ácido gama amino-butírico es el principal neurotransmisor inhibitor del sistema nervioso central.

Las benzodiazepinas se fijan en lugares específicos de los receptores GABA y provocan un aumento de la afinidad del receptor GABA por su neurotransmisor GABA. Esto conlleva al paso de los iones de cloro a la neurona.

Se sabe que hay dos subtipos de receptores de las benzodiazepinas en el sistema nervioso central (también llamados receptores W). Receptor BZ1 (W1) y BZ2 (W2). Los receptores BZ1 posiblemente están más implicados con el sueño y los receptores W2 o BZ2 con la cognición, memoria y control motor.

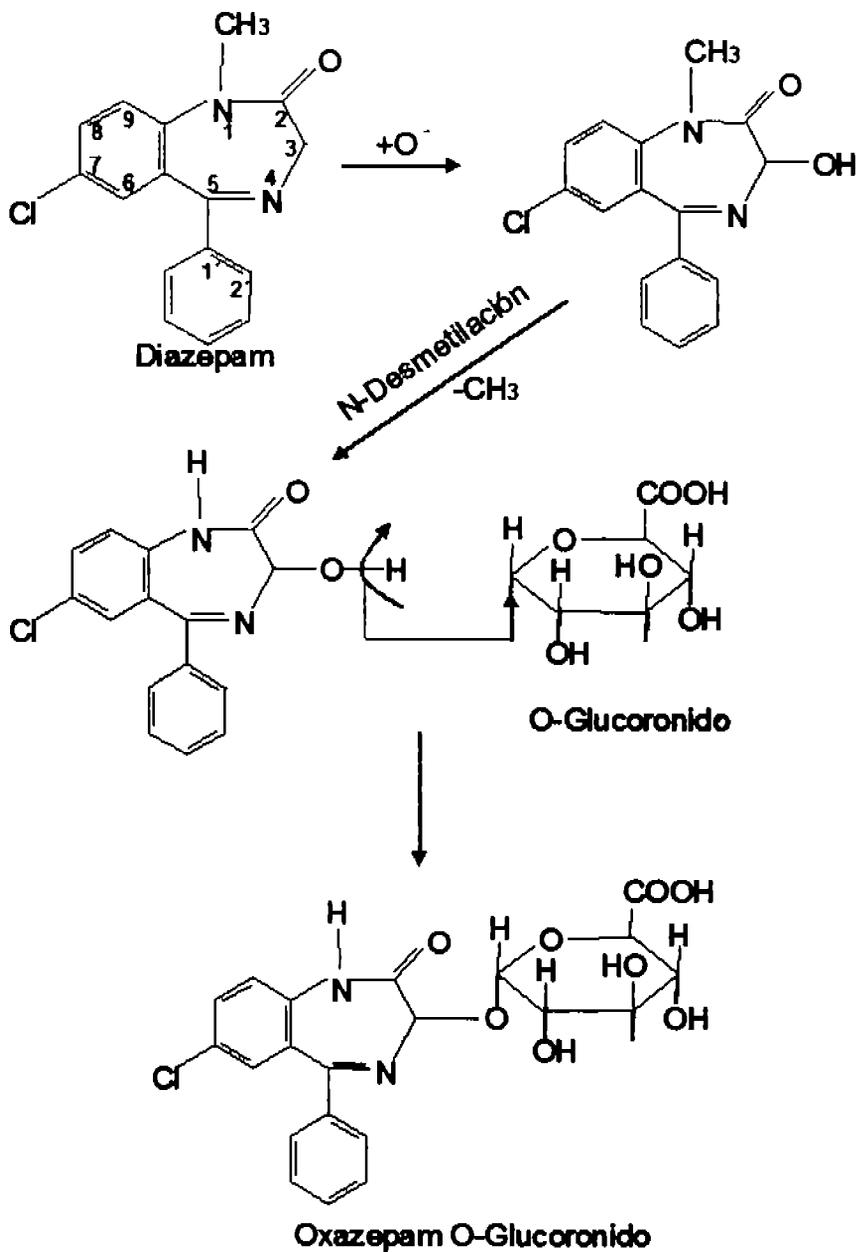
Hay casos en los que existen sustancias no benzodiazepínicas, utilizadas como hipnóticos.

3.3.5. Efectos farmacológicos: ⁵

Cada benzodiazepina posee una proporción distinta, lo que determina su perfil de acción, entre las que se tienen:

- Ansiolíticos
- Sedantes o hipnóticos
- Anticonvulsivos
- Miorrelajantes

Proceso metabólico del diazepam



Esquema 4. Proceso metabólico del diazepam ^{10, 15}

3.3.6. TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN PARA BENZODIAZEPINAS ^{10, 41}

Benzodiazepínicos

- Observación: comprimidos, grageas, cápsulas e inyectables
- Reacción de coloración:

Reacción de Bratton-Marshall

- cromatografía en capa fina
- espectrofotometría de infrarrojo

CUADRO 3. PRUEBA PRESUNTIVA PARA BENZODIAZEPINAS

REACTIVO	RESULTADO	GRUPO IDENTIFICADO
Bratton-Marshall	Coloración azul-violeta	nitrógeno

3.3.7. MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN DEL METABOLITO (OXAZEPAM) EN ORINA (GC/MS).^{4, 10, 11, 15, 19, 41}

Agitar muestra de orina:

- 1.- Tomar 10 ml de orina (agitar), centrifugar 10 min/3500rpm
- 2.- Agregar 3ml de [HCl] o β -glucoronidaza (agitar)
- 3.- Incubar 15 min a 65-70°C
- 4.- Dejar enfriar a temperatura ambiente y agregar 10 ml de éter de petróleo, (realizar 3 extracciones).
- 5.- Agitar por 5 min en forma manual

En caso de emulsión y generación de gases, poner en hielo el tubo.

- 6.- Extraer fase orgánica.
- 7.- Juntar los extractos y centrifugar por 5min. a 4000 rpm
- 8.- Llevar a sequedad el extracto bajo corriente de nitrógeno a 50-55°C

Cuidado al llevar a sequedad pueden generarse cenizas

- 9.- Derivatizar con 40 μ l y agitar*
- 10.- Incubar por 20 min. a 70 °C**
- 11.- Agitar, dejar enfriar e inyectar 1 μ l al equipo de GC/MS.

* y ** No tiene mucho caso, debido a que se pueden obtener los mismos resultados, evitando así el gasto de derivatizante y tiempo.

Condiciones del equipo

Temperatura inicial 100°C mantener por un minuto

10°C/1min hasta 230 °C

15°C/2min hasta 280°C

Picos característicos (iones) que se aprecian en el Espectro de Masas:

Oxazepam: c/derivatizante:

429, 430 y 431 incluyendo los iones 415 y 401

oxacepam: s/derivatizante:

77, 205, 237, 239, 238, 267, 268, 269, siendo los más característicos:

Por abundancia: 268, 239 y 205

Bromazepam:

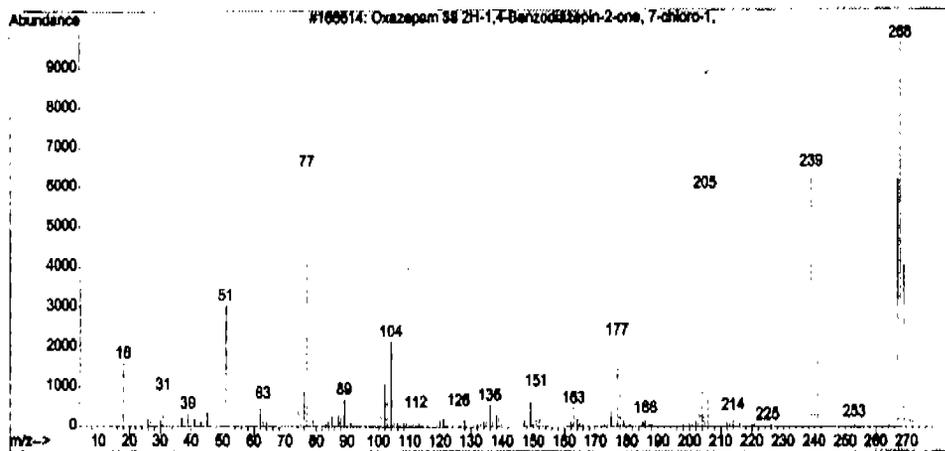
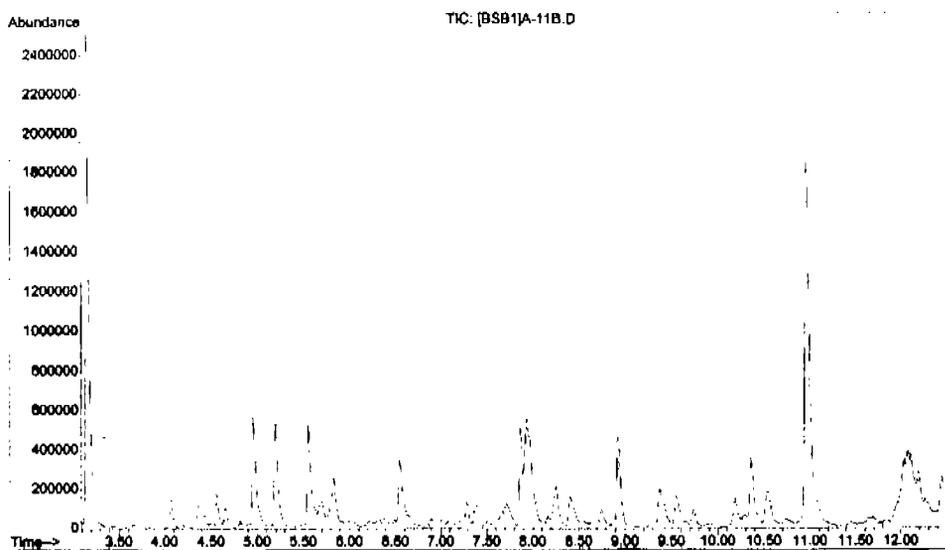
57, 79, 105, 179, 305, 314 y 331

Flunitrazepam

224, 252, 271 y 298.

3.3.8. ESPECTRO DEL GC/MS. (Sin derivatizar).

Cromatograma de Gases



Espectro de Masas denotando los iones característicos del metabolito.

Figura 11. Espectro del GC/MS del oxacepam s/derivatizar.

3.4. ANFETAMINAS y META-ANFETAMINAS

- L. Eledano sintetizó las anfetaminas en 1887 y no fue sino hasta 1929 Gordon Ales descubrió el eledano (sulfato de anfetamina) y su dextroisomero con mayor actividad el sulfato dextroanfetaminico, el cual tiene la capacidad de estimular el sistema nervioso central, en 1931 comenzaron a estudiarla. Durante la Ley Secany se creó un nombre comercial llamado bencedrina, cuyo principal isómero era la dextroanfetamina.³⁵
- La palabra anima, deriva de la palabra amoniaco la composición química de la anfetamina es C_9H_9N tanto en el mercado legal como en el negro se venden soluciones inyectables o tabletas (Bifetamina, Bencedrina, Erc) en México Obocel Complex la comercialización como Lucofen y Redotex.
- Las formas de adulteración se dan a través de la efedrina y cafeína y su aplicación intravenosa es sumamente riesgosa.

3.4.1. BREVE HISTORIA DE ANFETAMINAS

Se puede ingerir por vía respiratoria, digestiva o intravenosa; en el caso de la ingesta digestiva los efectos empiezan en 30 minutos y se prolongan durante 10 horas, en cualquiera de las otras el efectos es casi instantáneo pero la duración es efimera, inhibe la recaptura de adrenalina y estimula el sistema nervioso central, afecta el hipotálamo ocasionando falta de apetito entre otros. Las dosis leves van de 10 a 30 miligramos, siendo que dosis mayores de 100 gramos son extremadamente peligrosas. Los efectos son parecidos a los de la cocaína aumentando el estado de alerta, la falta de sueño, la disminución de la fatiga, mejora de animo y de confianza, euforia, depresión mental y fatiga como efectos secundarios, incremento en el coeficiente intelectual, intranquilidad, agitación, resequedad bucal, sabor metálico, hipertensión, visión borrosa, el uso prolongado puede ocasionar anorexia, infartos cardiopulmonares, paranoia, delirios y problemas renales y hepáticos, la tolerancia es extremadamente alta iniciando con una dosis baja, después de 3

o 4 semanas se necesita incrementar de manera considerable la dependencia psicológica es bastante alto y el síndrome de abstinencia puede durar semanas, la intoxicación se manifiesta por enrojecimiento facial, pérdida de la coordinación, dolor torácico, hipertensión o coma, se debe de administrar leche o carbón activado para evitar la absorción y provocar el vómito, cualquier sobredosis debe considerarse como urgencia medica.^{23, 30, 35}

META ANFETAMINA.

- La meta anfetamina se desarrolló en Japón en 1919 y se utilizó en 1938 en la Segunda Guerra Mundial, se comercializó con los nombres de Maxitron y Metedrina, apareció en el mercado negro con el nombre de Clorhidrato de Meta anfetamina conocido como CRACK.
- En el Oriente como Shabu o Sharon, en Estados Unidos como Hielo o Ice, en México la compañía Robins la comercializó como Ámbar.
- Es un polvo blanco que puede concentrarse en comprimido o en tabletas en forma de rocas cristalinas con aspectos de cubos de hielo con el sobrenombre de Ice, la adición de un grupo de metilo en el átomo del hidrógeno en la anfetamina da lugar a la meta anfetamina, su forma de adulteración es con cafeína y con fenilpropanolamina.³⁵

3.4.1. BREVE HISTORIA DE META-ANFETAMINAS

Aunque la Meta-anfetamina puede administrarse de cualquier manera, es importante señalar que comúnmente lo hacen por medio intravenoso disolviéndola en agua destilada como si fuera heroína, cuando es por vía pulmonar fumándose los cristales dándose una intensidad de 3 a 5 horas. Es el estimulante mas fuerte del sistema nervioso central alterando la barrera hematoencefalica incrementa la producción de dopamina y noradrenalina, una dosis oral de 10 a 30 miligramos produce ausencia de sueño, estado de alerta, falta de fatiga, elevación de humor, auto confianza, euforia, aumento en la actividad motora y habla, mayor cantidad de trabajo, mejora el rendimiento físico, aumenta la opresión, dilata las pupilas, eleva el azúcar, produce insomnio, produce diarrea, sudoración y temblor en las manos, a largo plazo el hígado y los riñones sufren de desnutrición y aparecen daños cardiovasculares seguido por una psicosis. Curiosamente la mayoría de los consumidores de meta anfetaminas tiene una compulsión por armar y desarmar objetos metálicos.^{23, 35, 39}

La tolerancia es muy alta y de administrarse 30 a 50 veces la dosis puede provocar una locura furiosa, ocasiona una dependencia psicológica importante y el síndrome de abstinencia provoca ansiedad, ataques de hambre, sueño y violencia depresiva.



Figura 12. Presentación de las anfetaminas³⁵

3.4.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y ESTRUCTURA ^{5, 6, 15}

3.4.2.1. **Nombre químico o sinónimos:** α -metilbenceno etamina; d1- α -metilfenetilamina; 1-feni-2-aminopropano.

3.4.2.2. **Fórmula empírica:** C₉ H₃ N

3.4.2.3. **Peso molecular:** 135.20

3.4.2.4. **Aplicaciones o Usos:** como coadyuvante en el tratamiento del síndrome hipericinético (llevado por los sentimientos) en niños.

En el tratamiento de la narcolepsia

Se ha utilizado en la epilepsia de tipo gran mal asociada a fenobarbital para reducir la sedación debida a éste. En algunos casos de pequeño mal, sola o junto a succinimidas, puede evitar los ataques

3.4.2.5. **Composición:** anfetamina, fenil-isopropilamina

3.4.2.6. **Usos terapéuticos o aplicaciones:**

La meta-anfetamina se recomendó contra el mareo y la obesidad. En la actualidad se utiliza como analéptico en las sobredosis ocasionadas por sedantes hipnóticos.

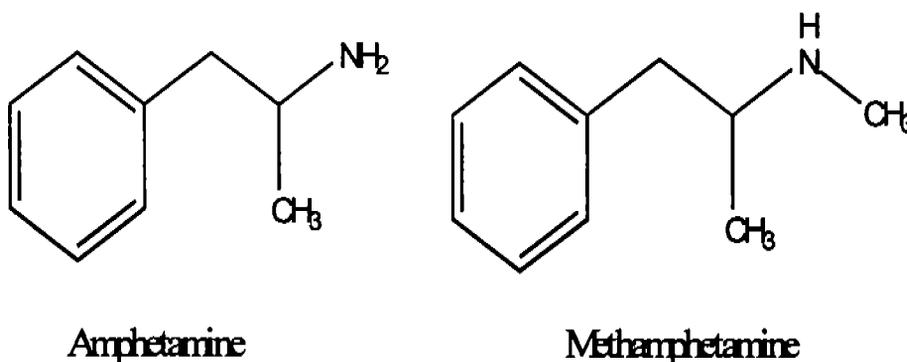
3.4.2.7. **Dosificación:**

Las dosis bajas de clorhidrato de meta-anfetamina van de 5 a 10 mg; las medias de 20 a 40 mg; y las altas de 50 a 90 mg. Dosis mayores pueden resultar letales entre consumidores sin

tolerancia. 2.5 a 40 mg/día (0.15 a 0.5 mg/kg/día) divididos en 2 a 4 tomas (8am – y medio día por ejemplo).

3.4.2.8. **Presentación:** polvo ligeramente soluble en agua, soluble en alcohol, éter y soluciones ácidas.

3.4.2.9. **Estructuras:**



La adición de un grupo de metilo en el átomo de nitrógeno de la anfetamina da lugar a la meta-anfetamina.

Figura 13. Estructura química de la anfetamina y meta-anfetamina

3.4.3. FARMACOCINÉTICA. ^{8, 15, 35}

Absorción:

Se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal

Distribución:

Se distribuye ampliamente atravesando la barrera hematoencefálica. Su vida media varía de entre 10 y 30 h.

Metabolismo:

Es resistente al metabolismo por MAO y COMT; una pequeña parte se metaboliza por hidroxilación aromática o alifática y desaminación; transformándose respectivamente en dos metabolitos activos, la parahidroxianfetamina y la norefedrina. Teniendo un periodo de vida de 8 a 12 horas.

Eliminación:

Entre 70-90% se excreta sin modificar por vía renal. La acidificación de la orina incrementa su eliminación. Como dato curioso, las anfetaminas y meta-anfetaminas se excretan sin transformación por la orina en un 34%

3.4.4. FARMACODINÁMICA.^{23, 35, 39}

Es un agente simpático-mimético indirecto que actúa mediante la liberación del neurotransmisor adrenérgico desde la terminal presináptico.

Su actividad simpático-mimética alfa y beta no es muy pronunciada en el hombre, sobre todo si se emplea por vía oral, aunque pueden aparecer palpitaciones, taquicardia, hipertensión, cefalea y sequedad de boca.

Induce un notable efecto estimulante del SNC produciendo: aumento de la actividad mental y locomotora, disminución de la sensación de fatiga, insomnio, anorexia, ansiedad, temblor e irritabilidad.

Ejerce un efecto calmante en niños hiperkinéticos. La d-anfetamina ejerce menos efectos en el sistema cardiovascular que el l-isómero o la mezcla racémica, pero es un excitante de SNC más potente.

3.4.5. EFECTOS PSICOLÓGICOS Y FISIOLÓGICOS³⁵

Sus efectos de la meta-anfetamina son similares a los de la anfetamina, sólo que su potencia es mayor. De acuerdo al doctor Brian B. Hoff Man, los resultados principales de una dosis oral de 10 a 30 mg son los siguientes: ausencia de sueño, estado de alerta y una sensación disminuida de fatiga; elevación del humor, con mayor iniciativa, auto confianza y capacidad de concentración; muchas veces euforia; aumento de la actividad motora y el habla. Sólo mejora el rendimiento de las tareas mentales sencillas y, aunque puede lograrse realizar mayor cantidad de trabajo, el número de errores puede aumentar. Estos efectos no son invariables y pueden revertirse con la sobredosificación y el uso repetido. Mejora el rendimiento físico, en los atletas por ejemplo, y muchas veces se hace abuso del fármaco para ello. El uso repetido o las dosis grandes casi siempre se siguen por depresión mental y fatiga proporcionales al nivel de consumo; como consumo personal de clorhidrato de meta-anfetamina es de 20 a 40 mg dentro de leyes y normas regidas para la República Mexicana.

3.4.6. TOXICIDAD:

Aumentando presión sistólica y diastólica ocasiona: taquicardia, arritmias cardiacas y aumenta la contractilidad del esfínter vesical.

3.4.7. MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN DE ANFETAMINAS EN ORINA (GC/MS).^{4, 10, 11, 15, 19, 41}

Agitar muestra de orina:

- 1.- Tomar 5 ml de orina (agitar), centrifugar 10 min/3500 rpm
- 2.- Agregar 1ml de NaOH 1N (agitar), pH= 10-13.5
- 3.- Agregar 3ml de diclorometano o cloruro de metileno CH_2Cl_2
- 4.- Agitar con vortex por 15 seg.
- 5.- Centrifugar 5min a 3000 rpm
- 6.- Extraer fase orgánica.
- 7.- Adicionar 3 ml de MeOH-HCl (9:1)
- 8.- Extraer fase orgánica, juntar los extractos
- 9.- Llevar a sequedad el extracto bajo corriente de nitrógeno
- 10.- Reconstituir con solvente.
- 11.- Agitar, dejar enfriar e inyectar 1 μl al equipo de GC/MS.

Condiciones del equipo

Temperatura inicial 100°C mantener por un minuto

40°C/min hasta 230°C

15°C/min hasta 280°C

Picos característicos (iones) que se aprecian en el Espectro de Masas:

Anfetaminas s/derivatizante:

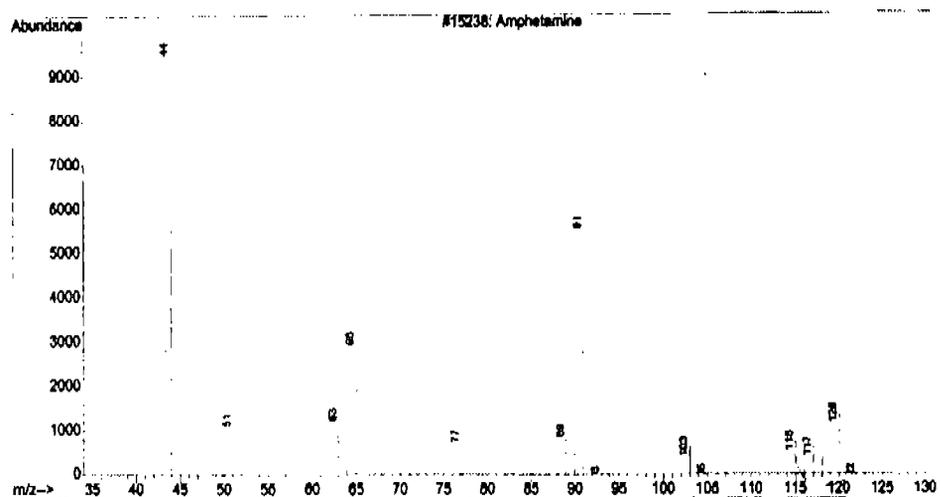
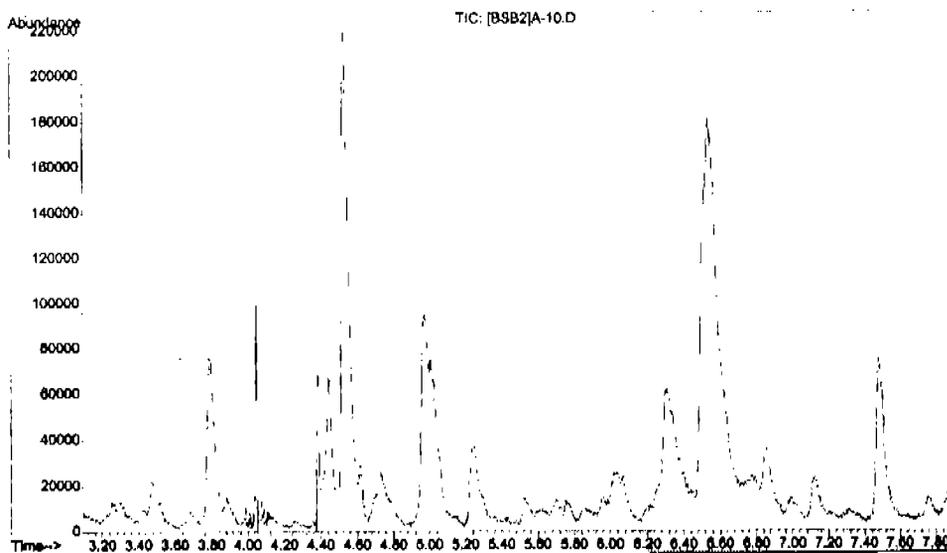
44, 91, 65, 120, 77

Meta-anfetamina s/derivatizante:

58, 91, 42, 77

3.4.8.1. ESPECTRO DE GC/MS (anfetaminas)

Cromatograma de Gases

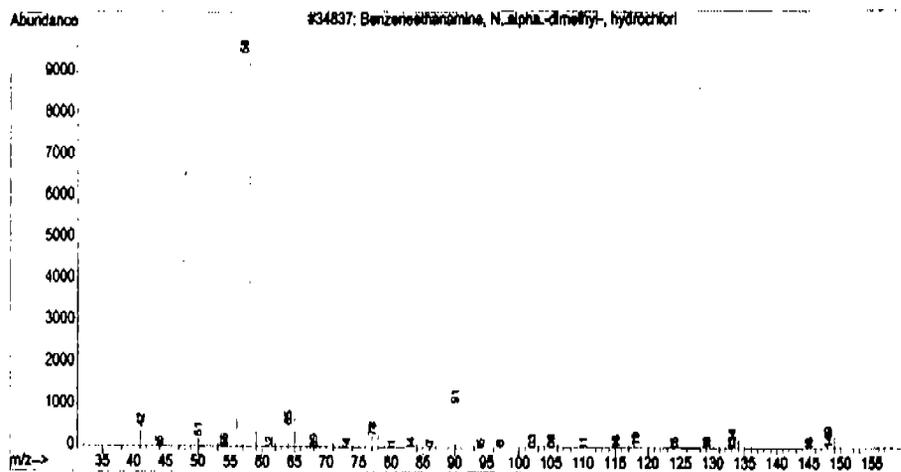
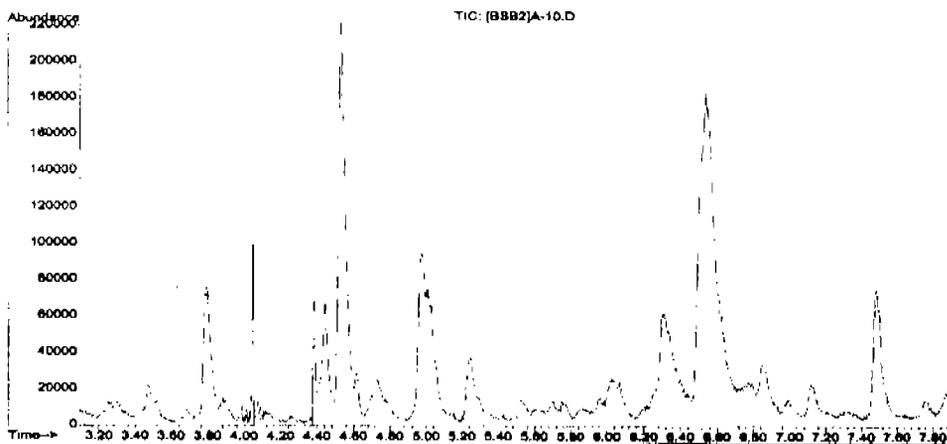


Espectro de Masas denotándose los iones característicos del metabolito

Figura 14. Espectro del GC/MS de la anfetamina s/derivatizante.

ESPECTRO DE GC/MS (meta-anfetaminas)

Cromatograma de Gases



Espectro de Masa denotándose los iones característicos del metabolito.

Figura 15. Espectro del GC/MS de meta-anfetamina s/derivatizar.

3.5. OPIO U OPIÁCEOS.

- Se define en la Real Farmacopea Española como “látex secado al aire, obtenido por incisión de las cápsulas todavía verdes de *Papaver somniferum L.*”.¹
- Con opioide se designa todo fármaco natural o sintético, no procedente del opio, cuya acción farmacológica es similar.
- *Adormidera*: Cápsulas de distintas variedades del *Papaver somniferum L.* Papaveraceae.¹
- La morfina es el alcaloide fenatrénico más importante del opio y el que le da la característica predominante
- Opiáceos: Efecto narcótico y analgésico. Producen tolerancia, dependencia física y psicológica. Morfina, Heroína, Codeína, Meperidina (Demerol), Methadona.⁸

3.5.1. BREVE HISTORIA.

La adormidera, es originaria de las regiones que bordean el Mediterráneo Oriental y se tienen datos de que es cultivada desde el 3500 a.C., es una planta anual, la cual llega a medir de 1-1.5 metros de altura, con hojas alternas y oblongas, lleva flores solitarias grandes, teniendo como fruto una cápsula esférica u ovoide, colocada sobre un pedúnculo engrosado en su unión, con semillas muy pequeñas y numerosas (25,000-30,000). Una característica de esta planta es que por incisión de cualquiera de sus partes, la planta segrega un látex.^{1, 21,38.}

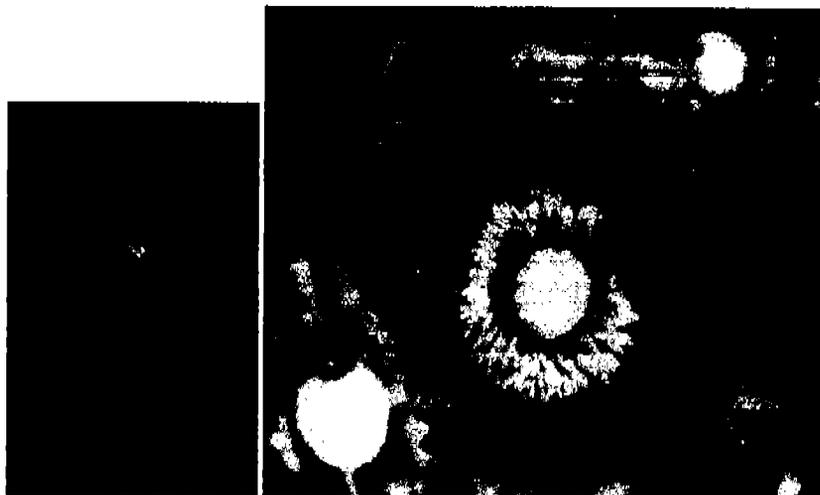
En 1883, Dreser, un químico alemán, aisló un opiáceo nuevo gracias a la acetilización del clorhidrato de morfina, la *diacetylmorfina*.

La acción de esta nueva droga sobre las vías respiratorias era tal, que se creyó que había sido vencida definitivamente la tuberculosis, por lo que se le dio el nombre de heroína (*herios*, remedio enérgico). La heroína sin refinar se conoce como *brown sugar* (azúcar moreno); y ya refinada como *horse* o *H*.

Por lo general, la heroína se disuelve en agua y se inyecta directamente en las venas, aunque también puede ser inhalada.

Esta planta fue introducida a México por los españoles. Allí se le dio el nombre de amapola y comenzó a utilizarse como narcótico para producir sueño, especialmente en casos de dolor severo.^{28, 30}

Figura 16. Flor de la amapola.



Referencia: 38. 41

Tabla. 2. Descripción y diferenciación entre opiáceos y opioides

	Tipo	Características	Actividad Intrínseca
Opiáceos	Morfina	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Analgésico ▪ Duración del efecto: 4-5 horas ▪ Vida media: 3 horas ▪ Suprime la tos 	Agonista
	Codeína	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Duración del efecto: 4-6 horas ▪ Vida media: 3-4 horas ▪ Sustancia a partir de la cual se sintetizan la naloxona, naltrexona, y buprenorfina 	Agonista parcial
	Tebalína		
	Papaverina	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Espasmolítico 	Antagonista
	Noscapina	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Suprime la tos sin adicción potencial 	Antagonista
	Heroína, (3, 6 diacetylmorfina, diamorfina DAM)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Analgésico obtenido de la morfina ▪ Duración del efecto: 4-5 horas ▪ Vida media: media hora 	Agonista
Opiodes	Semi-sintéticos		
	Buprenorfina	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Analgésico ▪ Inhibidor de la abstinencia a opiáceos a dosis altas ▪ Duración del efecto: 6-8 horas ▪ Vida media: 5 horas 	Agonista parcial
	Sintéticos		
	Metadona	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Analgésico ▪ Inhibidor de la abstinencia a opiáceos a dosis altas ▪ Duración del efecto: 8-48 horas ▪ Vida media: 15-22 horas 	

Referencias: 28, 32,38.

3.5.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y ESTRUCTURA.^{8, 15}

3.5.2.1. **Nombre químico o sinónimo:** 6-monoacetilmorfina, Morfina, Fenatreno, Codeína, Tebafna, Bencilsoquinolina, Papaverina, Noscapina,

3.5.2.2. **Aplicaciones:** Propiedades calmantes, analgésico, deprime el centro respiratorio y el de la tos, disminuye el tono y peristaltismo de la fibra lisa intestinal, biliar, etc., disminución de secreción biliar, retención urinaria

3.5.2.3. **Composición química del opio:**

Cápsulas: contiene alcaloides isoquinoleínicos de tipo morfina en proporción variable según las variedades de la planta.

Semillas: son ricas en lípidos (40-45%), predominando los glicéridos de ácidos grasos saturados (ácidos oleico, linoleico y linolénico), 15% de glúcidos y 20% de prótidos. No contiene alcaloides.

Opio: Agua (10-15%), materias minerales (5-6%), taninos, mucílagos, azúcares abundantes (20%), ácidos orgánicos (ácido láctico, fumárico, etc.) y sobre todo mecónico, que puede ser utilizado como marcador de identidad.^{1, 21}

3.5.2.4. **Presentación de la Heroína:** La heroína sin refinar es un polvo granulado color canela; ya refinada es un polvo blanco, fino y cristalino.⁴¹

3.5.2.5 Estructura:

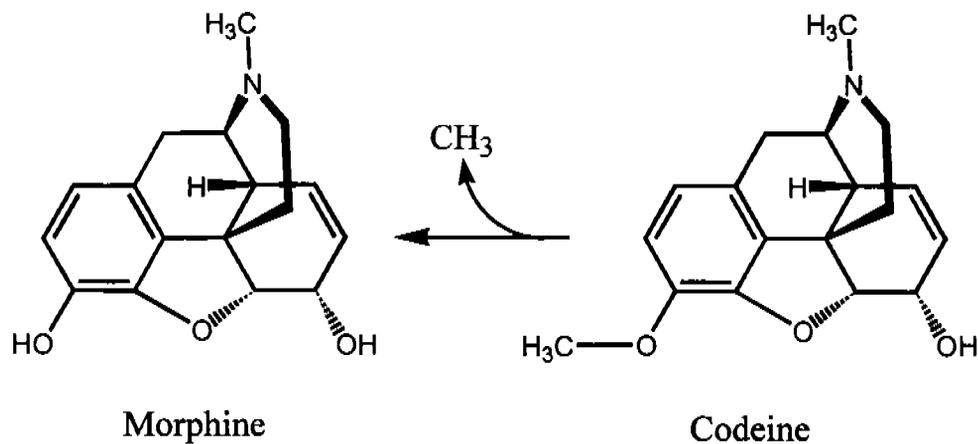


Figura 17. Estructura química de la morfina y codeína

3.5.2.6. DOSIFICACION

Las dosis terapéuticas son de 5 a 10 mg por medio de inyecciones subcutáneas o intramusculares. Como antitusígeno se recomienda en dosis de 1.5 a 6 mg por vía oral. Para usos extrafarmacológicos, las dosis bajas rondan los 5 mg, las medias 15 mg y las altas más de 25 mg. La dosis letal se calcula en 250 mg para sujetos sin tolerancia.^{28, 30}

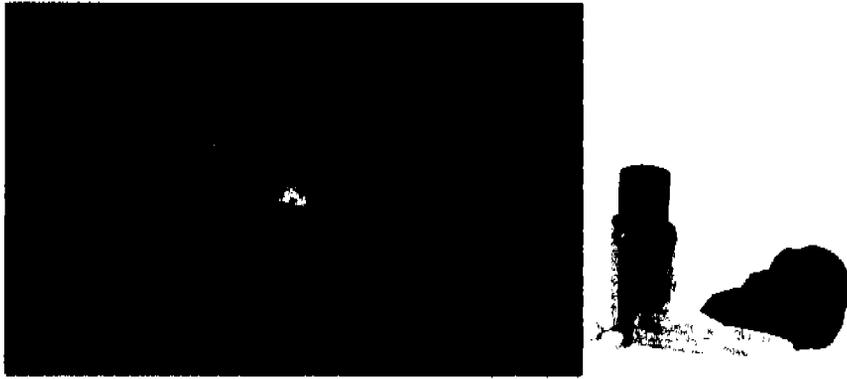


Figura 18. Utensilios utilizados y presentación de la Heroína³⁸

3.5.3. FARMACOCINÉTICA^{4, 8, 9, 38.}

Absorción:

Los opiáceos son fácilmente absorbidos en tubo gastrointestinal, también se absorben por mucosa nasal y por los pulmones y por vía subcutánea e intramuscular. El efecto de una dosis es mucho menor por vía bucal que por vía parenteral.

Distribución:

La morfina libre abandona rápidamente la sangre y se concentra en el tejido parenquimatoso de riñón, pulmón e hígado. La morfina no se acumula en los tejidos y a las 24 horas disminuyen las concentraciones tisulares.

Biotransformación:

La desintoxicación principalmente es por conjugación con ácido glucurónico.

Eliminación:

En orina se encuentran pequeñas concentraciones de morfina libre y grandes de morfina conjugada.

Al cabo de 48 horas se encuentran vestigios de morfina en orina pero la mayor excreción se realiza en las primeras 24 horas.

3.5.4. FARMACODINÁMICA.^{2, 6, 8, 38}

La inyección intravenosa rápida de opioide produce ruboración cutánea caliente y sensaciones que se describen como orgásmicas que se describe como "arrebato" o "Flash" y pueden durar 45 segundos.

En el Sistema Nervioso Central la morfina produce somnolencia, cambios del estado de ánimo, y obnubilación mental. Estos síntomas ocurren al administrar pequeñas dosis de morfina (5 a10 mg) a sujetos con dolor, molestias o preocupaciones. Cuando se administran las mismas dosis en individuos supuestamente normales o sin perturbaciones molestas, produce disforia, que consiste en ansiedad o temor leves, nauseas, apatía, etc.

El alivio del dolor es selectivo pues no se embotan otras modalidades sensoriales. Hay aumento considerable de la tolerancia al dolor, aun persistiendo inalterada la capacidad para percibir el dolor.

3.5.5. TOXICIDAD:^{2,3}

- Aparece irritabilidad, midriasis anorexia, irritación cutánea, inquietud, temblor.
- Debilidad y depresión pronunciadas
- Náuseas, vómitos
- Presión arterial elevada

- Escalofríos intensos, ruboración y sudoración excesiva.
- Calambres abdominales.
- Muerte

3.5.6. EFECTOS PSICOLÓGICOS Y FISIOLÓGICOS ^{6,8}

Según describe Escohotado, las primeras administraciones de heroína se reciben con manifestaciones de fuerte desagrado, entre las cuales destacan náuseas y vómitos. La sensación inicial se conoce como *rush*, una estimulación placentera e inmediata de los centros nerviosos de la parte superior del cerebro.

3.5.7. TOLERANCIA ¹³

- Se desarrolla un alto grado de tolerancia a los efectos de depresión respiratoria, sedación, analgesia, emesis y a los efectos euforizantes de los opioides o agonistas.
- La utilización de la droga intenta la búsqueda del "arrebato" pero para esto debe aumentar la dosis en forma constante.
- Existe un elevado grado de tolerancia cruzada entre los opioides que ejercen sus acciones en el mismo tipo de receptor. En cambio hay poca o nula tolerancia cruzada entre los opioides que actúan en diferentes receptores.

Un par de años después, la Aspirina® y la Heroína®, se anuncian juntas como insuperables analgésicos y para contrarrestar varias enfermedades pulmonares.

Gracias a las estratosféricas ventas que ambos productos reportan durante casi tres décadas, la firma Bayer pasa a convertirse en una poderosa empresa con altísimos índices de exportación

3.5.8. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN DE OPIO U OPIÁCEOS ^{10, 15, 41}

CUADRO 4. PRUEBAS PRESUNTIVAS PARA OPIO (coloración y precipitación)

En el Laboratorio cuando llega esta Droga, se trabaja bajo condiciones de seguridad estricta y con equipo especializado.

REACTIVO	RESULTADO	GRUPO IDENTIFICADO
Buchardat	(+) precipitado color café parduzco	alcaloides
Marquis	(+) coloración morada	aminas
FeCl ₃ + HClconc.	(+) coloración marrón-morada	

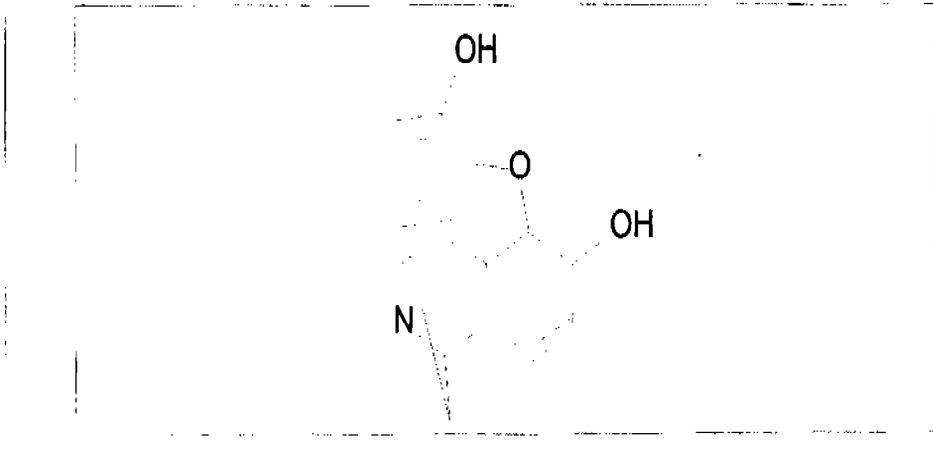
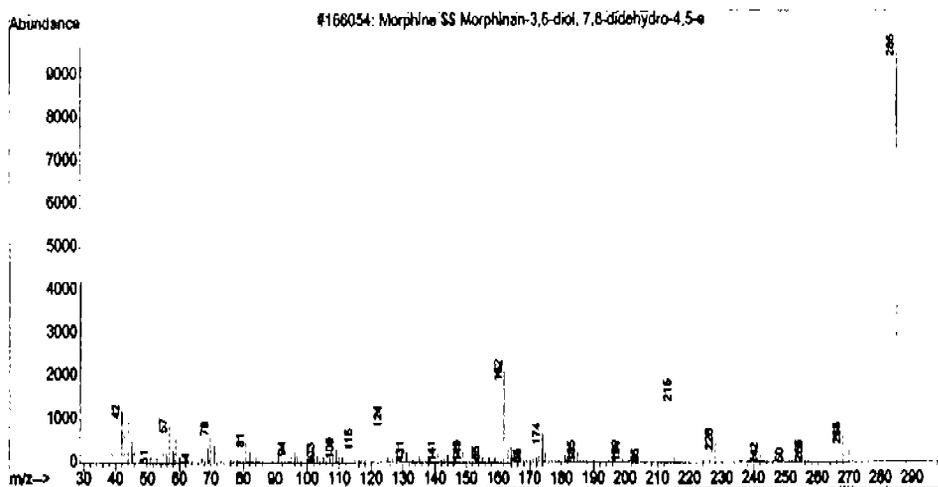
Nota: Estas reacciones las dan positivas: Heroína, Morfina y Opio

3.5.9. MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN DEL METABOLITO EN ORINA (GC/MS).

NO PUDO SER PROPORCIONADO

3.5.1. ESPECTRO DEL GC/MS

Espectro de masas denotándose los iones característicos del metabolito



Estructura química de la morfina tomada de la biblioteca del equipo analítico GC/MS

Figura 19. Espectro del GC/MS de la Morfina.

3.6. FUNDAMENTO Y FUNCIONES DEL EQUIPO ANALÍTICO (GC/MS)^{7, 18, 28, 32, 41.}

CROMATÓGRAFO DE GASES ACOPLADO A ESPECTRÓMETRO DE MASAS. (CONFIRMATIVO).

La palabra cromatografía se remonta dando a sus orígenes griegos, que significa “escribir o dibujar con colores”, y se debe a que en sus inicios esta técnica se utilizaba para separar pigmentos vegetales, obteniendo bandas de diferentes colores.

Fundamento de la Cromatografía de Gases/Espectrometría de masas (GC/MS)

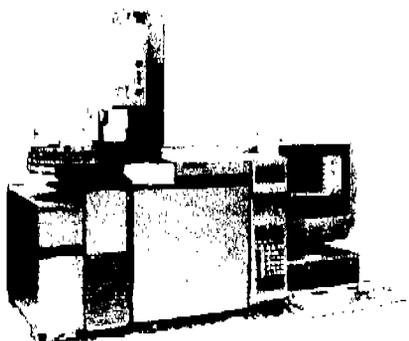


Figura 19. Equipo Analítico GC/MS

En los términos más simples el instrumento de GC/MS representa un dispositivo que separa mezclas químicas (el componente de la Cromatografía Gaseosa) y un detector muy sensible (el componente del Espectrómetro de Masas). Para determinar la masa molecular es necesario ionizar la molécula mediante diferentes técnicas como Impacto electrónico (EI), Ionización Química (CI), etc. Las combinaciones cromatográficas como la GC/MS permiten además determinaciones cuantitativas de compuestos volátiles en muestras complejas, previa separación cromatográfica.⁴²

Los iones formados son acelerados y enfocados hacia el analizador que los separa en función de su relación masa a carga (m/z) y son recogidos en un colector o detector que registra la señal producida. Estas señales son digitalizadas y enviadas a un sistema

informático que nos permite estudiar las señales recibidas, manipularlas y compararlas con librerías comerciales de espectros ya registrados. El espectro de masas se representa en un sistema de coordenadas indicándose en el eje de abscisas la relación m/z y en el eje de ordenadas la abundancia iónica relativa de cada uno de los iones detectados.

PRINCIPIO DE OPERACIÓN DEL EQUIPO^{42, 22}

La cromatografía de gases consiste en que para poder separar sustancias, tienen que estar en un estado líquido o gaseoso para que por medio del vapor pueda ser cuantificado. Es un método de separación de mezclas por adsorción o repartición de mezclas, que consta de una fase móvil que es un gas y una fase estacionaria.

Una vez que la solución de la muestra se introduce en la entrada del Cromatógrafo de Gases se vaporiza inmediatamente debido a la temperatura alta (250 °C) y barrido sobre la columna por el gas portador (generalmente helio). Un gas portador debe reunir ciertas condiciones:

1. Estabilidad a la temperatura de operación de trabajo
2. Debe ser inerte para evitar interacciones (no debe de reaccionar con la muestra ni con la fase estacionaria)
3. Debe ser capaz de minimizar la difusión gaseosa
4. Fácilmente disponible y puro
5. Económico
6. Tener densidad adecuada

➤ **Columna del cromatógrafo** ^{42, 19}

Es el lugar donde ocurre la separación. Se dice que es el corazón de un cromatógrafo. Los materiales con los cuales generalmente se pueden elaborar las columnas son: cobre, aluminio, acero inoxidable, vidrio ó teflón

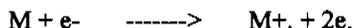
La muestra atraviesa la columna que experimenta los procesos normales de la separación. Mientras que los diversos componentes de la muestra emergen de la abertura de la columna, fluyen en el interfaz capilar de la columna. Este dispositivo es la conexión entre la columna de la Cromatografía Gaseosa y el Espectro de Masas. Algunas interfaces son separadores y concentran la muestra vía el retiro del portador del helio.

Los espectrómetros de masas constan de una fuente de ion, en la cual se produce un haz de partículas proveniente de la muestra; un analizador (separador de iones) que separa partículas de acuerdo a la masa; y un detector, en el cual los iones separados son recolectados y caracterizados.

➤ **Fuente de ion**

La muestra entonces se incorpora al compartimiento de ionización. Existen dos métodos potenciales para la producción del ion. El método que con más frecuencia es usado posiblemente dentro del laboratorio de toxicología es el de impacto del electrón (EI). La alternativa que de vez en cuando se usa es la ionización química (CI). ⁴²

Ionización por impacto del electrón (EI): Un haz generado por la lámpara de tungsteno o de filamento renio se utiliza para ionizar los átomos de fase de gas o moléculas. Se forman iones durante la colisión del haz y las moléculas de la muestra.



Aquí M representa la molécula del analito y M^+ es su ion molecular. Los iones positivos son acelerados por un campo eléctrico y transportado al campo magnético. Al cambiar el voltaje de aceleración, o sea la velocidad de la partícula o la fuerza del campo magnético, los iones de diferentes proporciones masa-carga pueden ser recolectados y medidos.

Ionización química (CI): Una pequeña cantidad de átomos gaseosos es ionizada por colisión con átomos producidos por el bombardeo del gas reactivo. Algunos gases reactivos más comunes son metano, oxígeno, amoníaco e hidrógeno. Creando un radical que alternadamente afecte la molécula de la muestra para producir iones moleculares. En lugar del ion molecular se obtiene la protonación del mismo o su asociación con el gas reactivo

Menos fragmentación ocurre con el CI que con EI, por lo tanto las producciones del CI nos proporciona menos información sobre la estructura detallada de una molécula, pero rinden el ion molecular; el ion molecular no se puede detectar a veces por el método de EI, por lo tanto se puede complementar el método de EI con el método CI. Una vez que está ionizado, se utiliza un pequeño potencial positivo para rechazar los iones positivos fuera del compartimiento de ionización.

➤ **Analizador o Separador de Iones**

El espectrómetro de masa separa individualmente los iones cargados de acuerdo a su masa. Tres tipos principales de espectrómetros masas se usan en comercialmente en sistemas de ICP-MS: el cuadrupolo, el tiempo-de-vuelo, y el sector magnético.

Cuadrupolo⁴²

El cuadrupolo del espectrómetro de masas trabaja permitiendo que solo un tipo de masa pase a través de él hacia el detector en un tiempo determinado. El cuadrupolo de hecho clasifica a los iones de acuerdo a su relación masa-carga (a menudo referida como m/z). El cuadrupolo hace esto preparando la combinación correcta de voltajes y radiofrecuencias para guiar los iones con la m/z seleccionada entre las cuatro barras del cuadrupolo. Los iones que no tienen la m/z seleccionada pasan afuera de los espacios entre las barras y son expulsados del cuadrupolo.

El analizador de masas tipo cuadrupolo es un “filtro de masas” fig 20. Este combina potenciales de DC y RF sobre las barras del cuadrupolo para que pueda pasar, solamente, una relación de masa/carga a través de él. Por consiguientes, el resto de los iones no tendrán una trayectoria estable a través del analizador de masas de cuadrupolo y colisionarán con las barras que lo conforman y no arribarán al detector:

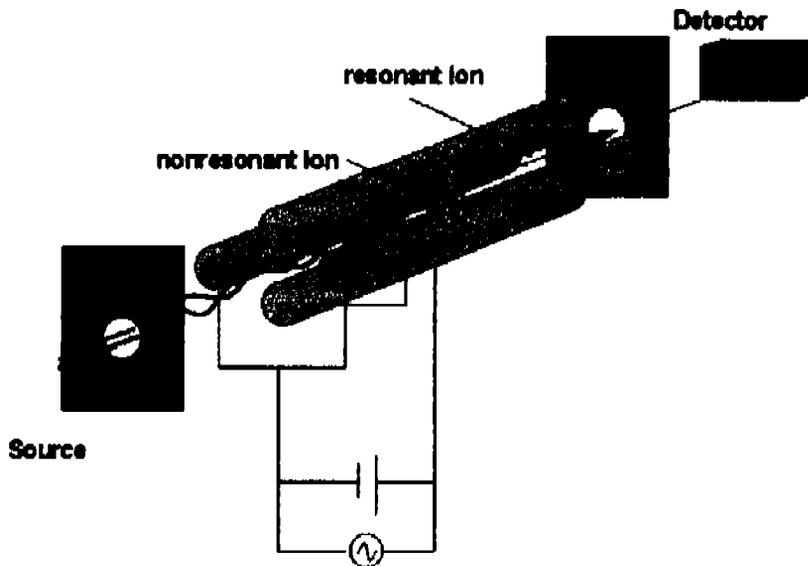


Figura 21. Espectro de masas (interior)

La operación de un analizador de masas cuadrupolo es tratada en términos de un diagrama de estabilidad que relaciona el potencial aplicado de DC (U) y el potencial RF (V(t)) y la frecuencia de RF (w) para una trayectoria de iones estable vs. inestable a través de las barras del cuadrupolo.fig.21.

Dos barras opuestas tendrán un potencial $+(U+V\cos(wt))$ y el otro par $-(U+V\cos(wt))$; en donde U es un potencial fijo y $V\cos(wt)$ representa campo de Radiofrecuencia (RF) con amplitud V y frecuencia w.

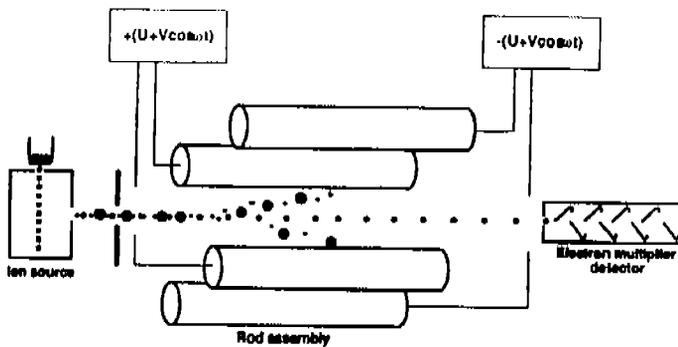


Figura 22. Cuadrupolo.

Cuando los ciclos $\cos(wt)$ con un tiempo (t), el voltaje aplicado sobre los pares opuestos de barras variará en una manera sinusoidal (llamada así porque una gráfica de la intensidad del campo eléctrico o magnético trazada en cualquier momento a lo largo de la dirección de propagación sería la gráfica de una función seno. La función $y = \sin x$ describe la variación del seno de ángulos medidos en radianes. Es continua y periódica de periodo 2π , (se denomina función sinusoidal) Fig.22.



Figura 23. Función sinusoidal.

pero en polaridad opuesta (debido a la compensación). A lo largo del eje central del cuadrupolo ensamblado y también el eje entre cada barra colindante la resultante del campo eléctrico es cero. En la dirección transversal de los cuadrupolos, un ion estará oscilando entre los polos en una manera compleja dependiendo de su m/z , los voltajes U y V y la frecuencia, w , del potencial alternante RF. Por opciones convenientes de U , V y w solamente los iones de una m/z estarán oscilando de una forma estable a través del cuadrupolo hacia el detector. El resto de los iones tendrán una gran amplitud de oscilación causando que ellos choquen con una de las barras. En la práctica, la frecuencia w es un valor fijo alrededor de 1-2 MHz.

La longitud y el diámetro de las barras determinarán el rango de masas y la resolución que pueda ser lograda por el ensamble del cuadrupolo.

El poder de separación de iones de un espectrómetro de masas se obtiene mediante el cociente entre la masa del ion y la diferencia de masas entre dos picos resueltos en un espectrómetro de masas.

$$R = m/\Delta m$$

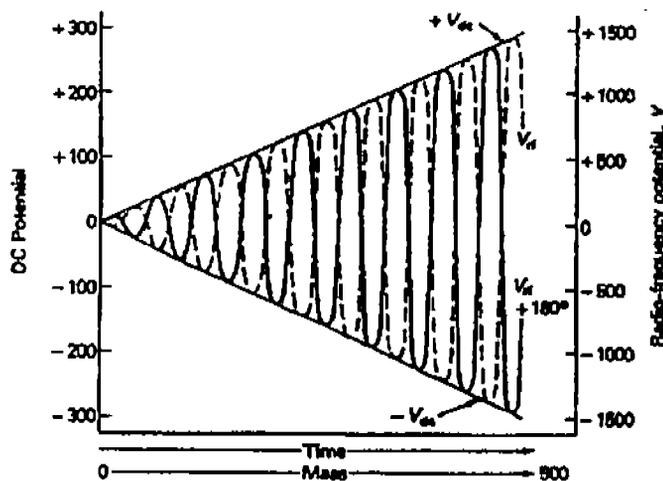


Figura 24. Grafico de diseño óptico para iones.

Cambiando la inclinación de la línea de escaneado cambiará la resolución. Incrementando la resolución decrecerá el número de iones que arriban al detector (la región de la cima de la región estable que es delimitada por la línea de escaneado). Una buena resolución depende de la calidad de las barras que conforman el cuadrupolo.

Las barras del cuadrupolo pueden tener otras funciones aunadas al uso como filtro de masas. Un cuadrupolo que trabaja solamente con RF actúa como una guía de iones dentro de un amplio rango de masas. Un cuadrupolo que trabaja solamente con DC se utiliza como un elemento de enfoque en algunos diseños ópticos para iones.

Un cuadrupolo consiste en 4 barras de aproximadamente 20 centímetros de longitud y 1 centímetro de diámetro

El espectrómetro de masas puede ajustarse a cualquier m/z requerida para medir los elementos de interés en la muestra analizada. Por ejemplo, para medir un fragmento, del metabolito de benzoilecgonina el cual tiene una masa de 240, el espectro de masa puede ajustarse para permitir que solamente los iones con una $m/z = 240/1$ pasen. O bien para un fragmento del metabolito de THC que tiene una masa de 478, el detector de masa en el espectro puede ajustarse para que los iones con una $m/z = 478/1$ pasen.

Aunque el cuadrupolo del espectrómetro de masas sólo permite una m/z para pasar a través de las barras en un tiempo dado, el voltaje fijado en las barras puede cambiar rápidamente. El cuadrupolo es capaz de medir fragmentos de 50 a 600 m/z en una muestra en dos o tres minutos.

El cuadrupolo se puede ajustar desde un valor de $m/z = 45$ hasta una $m/z = 600$ en menos de 0.1 segundos. Esto se le llama velocidad de escaneado del cuadrupolo. Ésta es la razón

por la que el GC-MS puede determinar diferentes elementos rápidamente aunque sólo una masa a la vez.

En lugar de usar una rejilla óptica en un monocromador que separa fuera la longitud de onda de luz para el elemento que sea determinado, el espectrómetro de masas separa los iones acorde a la relación de masa y carga.

➤ **El Detector.- Contador de Iones**¹⁸

Los iones que salen del espectrómetro de masas golpean la superficie activa del detector y genera una señal electrónica medible. La superficie activa del detector, conocido como **dínodo** (electrodo del tubo foto multiplicador cuya función primordial es la de producir una emisión secundaria de electrones de forma que se obtenga amplificación de corriente) mismo que descarga un electrón cada vez que un ion lo golpea.

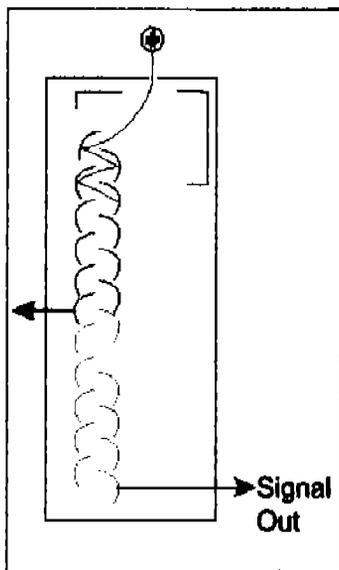


Figura 25. El Ion golpea el primer dínodo.

En la figura anterior fig.24. el ión abandona el cuadrupolo y golpea el primer dínodo, que descarga los electrones y comienza el proceso de amplificación. Los electrones descargados del primer dinodo golpean al segundo dinodo donde más electrones son descargados. Esta cascada de electrones continúa hasta que se crea un pulso mensurable. Mediante el conteo de los pulsos generados por el detector, el sistema cuenta los iones que golpearon el primer dinodo. La intensidad de un pico específico en el espectro de masas es proporcional a la contribución del isótopo en la muestra original. El detector de pulsos puede trabajar en tres modalidades: para concentraciones bajas (ppt y ppb), altas (ppm) y función dual. Por arriba de los 600 m/z del detector.

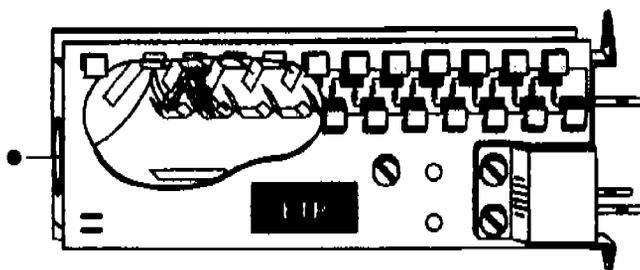


Figura 26. Ión golpea el primer dínodo.

Comparado con una AA o un ICP-OES, los detectores usados en GC-MS no son muy diferentes que los tubos foto-multiplicadores (un tipo de célula fotoeléctrica, que convierte los destellos de luz en pulsos eléctricos que pueden amplificarse y registrarse electrónicamente) que son usados como detectores en estos instrumentos ópticos.

En lugar de detectar la luz emitida por un analito, se utiliza un detector de iones.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

Se han reportado infinidad de métodos y técnicas para la identificación y cuantificación de metabolitos de drogas de abuso, tanto las mas comunes como las ya casi erradicadas; teniendo en común la mayoría, el uso del equipo (CG/MS), el método de extracción (líquido-líquido, sólido-líquido), la igualdad o semejanza de los solventes; pero sobre todo de la importancia de el pH del medio en que se va a manejar, debido a que cada metabolito de cada una de las drogas tiene sus propias características de extracción.^{4,9}

Cabe mencionar que el equipo en que se trabaja esta condicionado a las necesidades de ese laboratorio, en donde se busca eficiencia, calidad, rapidez y economizar. Un trabajo en donde no se pueden implementar tiempos largos de corridas y extracciones de mucho tiempo; donde se desperdicia aparte de tiempo, reactivos, luz, gases (equipo y proceso de secado).

Por estas y otras razones es que se busco estandarizar una marcha analítica para la identificación y confirmación de la presencia de metabolitos de drogas de abuso en orina, la cual pueda ser utilizada por cualquier personal de ese laboratorio, sin la preocupación de no obtener los resultados deseados. Optimizando tiempos (extracción, llevar a sequedad, al derivatizar, corrida), economizando (derivatizante, gases), reproducibilidad.

Realizando bien este trabajo, es más fácil el desempeño en el laboratorio

4.1. OBJETIVOS

4.1.1. Objetivo General.

Optimizar y Estandarizar los métodos para la extracción, identificación y confirmación de la presencia de metabolitos de drogas de abuso (cocaína y marihuana) en muestras de orina mediante el uso del equipo analítico GC/MS.

4.1.2. Objetivos particulares.

Seleccionar la marcha analítica idónea para la extracción de metabolitos de drogas de abuso en muestras de orina

Estandarizar una marcha analítica para la identificación de metabolitos de drogas de abuso en muestras de orina

Determinar una marcha analítica para la confirmación de la presencia de metabolitos de drogas de abuso en muestras de orina

Realizar una marcha analítica para la extracción, identificación y confirmación de la presencia de dos o mas metabolitos (benzoilecgonina y Δ^9 -THC) de drogas de abuso en muestras de orina por medio de una conjunción de pasos.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Muestras

Las muestras que se trabajaron en el laboratorio fueron muestras de individuos relacionados con las drogas de abuso, los cuales en las pruebas presuntivas^{*} daban positivo a uno o mas metabolitos de drogas de abuso.

Se analizaron ciento cincuenta (150) muestras de orina, las cuales se dividieron de la siguiente manera:

Cien (100) se trabajaron por duplicado para poder estandarizar la extracción (modo de agitación), número de extracciones, y en el caso de la extracción del metabolito de la cocaína el cambio de uno de los solventes y cantidad de derivatizante.

Cincuenta (50) se emplearon para estandarizar la confirmación de la presencia de mas de un metabolito en las muestras; así como determinar las condiciones optimas del equipo (CG-EM)

•

* Las pruebas presuntivas se refieren: llega la muestra de orina al Laboratorio, se trasvasa a un vaso que contiene un kit (prueba presuntiva), donde por medio de reacciones químicas se marca una línea y esto es un positivo a la presencia de la o metabolito de la droga; en caso de no marcar, es considerada negativa. En caso de dar positiva, se aplica el estudio o análisis confirmativo (en el GC/MS).

4.2.2. Materiales y Solventes utilizados

- Tubos de ensaye
- centrifuga
- cloroformo
- etanol
- n-heptano
- acetato de etilo
- termoblock
- termometro
- 2 microjeringas (10 μ l y 50 μ l)
- probeta de 50ml
- sistema de secador
- nitrógeno
- derivatizante (BSTFA con 1% de Si (CH₃)₃ · Cl
- Equipo Analítico GC/MS
- ácido clorhídrico concentrado
- ácido acético glacial

4.2.3. Características del equipo utilizado.



Figura 27. Equipo utilizado (del laboratorio de la PGR).

Cromatógrafo de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG-EM o GC-MS),^{23,24}

Modelo:

CG.- HP 6890 series, GC System, Plus +

EM.- HP 5973, Mass Selective detector.

Características de la columna:

Columna No polar empacada del 5% metil-fenil-silicona.

Gas acarreador:

Helio (He) ultra alta pureza.

Características de presión:

Presión constante 12.5 psia.

Hold min:

1 minuto para la temperatura inicial

Hold min.:

Varía para temperatura final

Características de la rampa:**5. METODOLOGÍA**

5.1.- Determinación para la extracción (modo de agitación), identificación y confirmación de la presencia del metabolito de la cocaína en muestras de orina. ^{4, 9, 10, 11, 15, 19, 21, 23, 24}

Agitar muestra de orina:

- 1.- Tomar 5 ml de orina (agitar)
- 2.- Agregar 0.5-0.7 ml de Hidróxido de amonio (agitar)
- 3.- Agregar 5ml de la solución de cloroformo-etOH (70:30) ó (80:20) y agitar

NOTA: se puede utilizar 2-propanol en lugar del etanol.

Extraer fase orgánica.

- 4.- Realizar dos extracciones más con la solución
- 5.- Realizar una última extracción con puro cloroformo (agitar)
- 6.- Juntar los extractos y centrifugar por 5min. A 4000 – 5000 rpm
- 7.- Llevar a sequedad el extracto bajo corriente de nitrógeno a 60-70 °C
- 8.- Derivatizar* con 40 µl y agitar
- 9.- Incubar por 30 min. A 60 °C
- 10.- Agitar, dejar enfriar e inyectar 1 µl al el equipo de GC/MS

* El derivatizante empleado es el BSTFA con 1% de Si (CH₃)₃ °Cl

Condiciones del equipo GC/MS

Temperatura de la columna:

Temperatura inicial 120°C mantener por un minuto

Rampa:

15°C/2min hasta 280°C

Picos característicos (iones):

82, 240, 361 y 256.

5.2.- Determinación para la extracción (modo de agitación), identificación y confirmación de la presencia del metabolito del THC en muestras de orina. ^{4, 9, 10, 11, 15, 19, 21, 23, 24}

Agitar muestra de orina:

1.- Tomar 5 ml de orina (agitar), centrifugar 5 min/3000rpm

2.- Agregar 1ml de KOH (10N) (agitar)

3.- Incubar 25 min a 65°C

El objetivo de la incubación es el romper el enlace entre el ácido glucorónido con el delta-9-THC.

4.- Agitar por 5 min. aprox. Y dejar enfriar a temperatura ambiente

5.- Agregar 2ml de ácido acético glacial, agitar por 5 seg. aprox. Y regular pH (4 +/- 0.5)

6.- Agregar 2ml de la solución de n-heptano-acetato de etilo (80:20) y agitar por 5min y extraer fase orgánica.

7.- Realizar dos extracciones más con la solución

8.- Juntar los extractos y centrifugar por 10min. A 3000 rpm

9.- Llevar a sequedad el extracto bajo corriente de nitrógeno a 50-55°C

10.-Derivatizar con 40 µl y agitar

11.- Incubar por 30 min. A 70 °C

12.- Agitar, dejar enfriar e inyectar 1 µl.

Condiciones de la columna del cromatógrafo

Temperatura inicial 130°C mantener por un minuto

15°C/2min hasta 280°C

Picos característicos (iones):

371, 473 y 488

5.3.- Determinación para la identificación y confirmación de la presencia de mas de un metabolito (benzollegonina y el delta-9-THC) de drogas de abuso en una misma muestra de orina. ^{4, 9, 10, 11, 15, 19, 21, 23, 24}

1.- Se toman 5ml de orina (en caso de tomar más ajustar los volúmenes de los ácidos y solventes), en caso de presencia de turbidez o precipitados u sólidos, agitar y centrifugar 5min/3000 rpm.

2.- Agregar 1ml de KOH (hidróxido de potasio) 10N y agitar.

3.- Incubar en termoblok 30 minutos a 50°C. Con el fin de romper el enlace del delta-9-THC con el ácido glucorónido, puesto que así es como puede salir el metabolito en la orina, de forma conjugada.

Estructura química del delta-9- THC y su metabolito, para su eliminación en la orina.

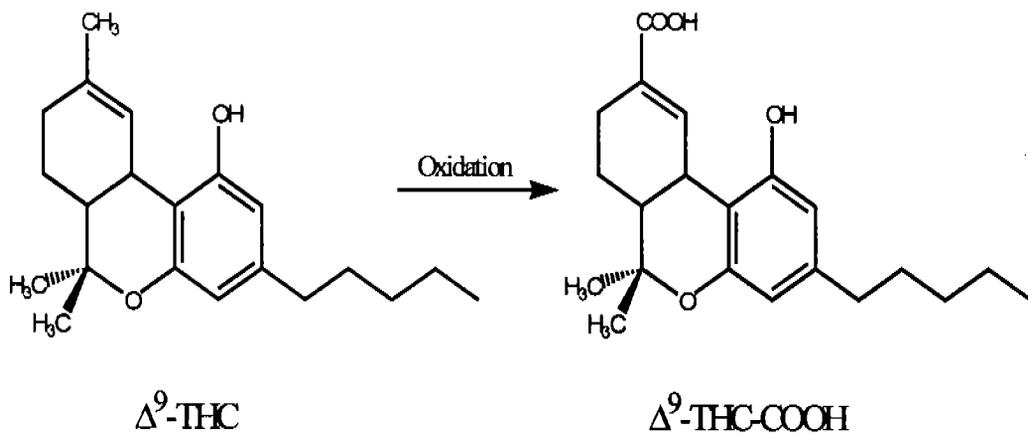


Figura 28. Estructura del Δ^9 -THC y su metabolito, para su eliminación en la orina.

4.- Agitar, dejar enfriar a temperatura ambiente; posteriormente, agregar 2ml de Ácido acético glacial, agitar (obteniéndose un pH de entre 3 +/- 1), puesto que así es como nuestro metabolito es insoluble en este medio polar (orina).

5.- Comenzar la extracción:

Adicionar 7-9ml de una solución de n-heptano- acetato de etilo en las siguientes proporciones: 1ª. 80-20, 2ª. 9º-10 y 3ª. 70-30. Agitar vigorosamente durante 5 minutos aprox. en forma manual para cada una de las extracciones; si se presenta una emulsión, se puede romper por: sonicación o baño maría.

6.- Fase orgánica (I), en donde se obtuvo un aproximado de 21-28ml, llevar a casi a sequedad bajo corriente de nitrógeno y en termoblock a unos 70-75°C.

6.1.- Dejar un aproximado de 5ml

7.- Adicionar a la fase acuosa un buffer de amonio, hasta alcanzar un pH de 9.5 +/- 1; agitar vigorosamente; o adicionar 1.5 ml de hidróxido de amonio concentrado.

8.- Incubar 10min a 70°C, agitar y dejar enfriar.

9.- Comenzar la extracción:

Adicionar 7-9ml de una solución de cloroformo-2-propanol, en las siguientes proporciones: 1°.70-30,2°.80-30 y la 3°. es con puro cloroformo (en caso de ser una muestra que sus niveles estén por debajo del límite de corte, se realiza una cuarta extracción, 1°.70-30, 2°.70-30,3°.80-20 y cuarta con puro cloroformo), si se presenta una emulsión, se puede romper por: sonicación o baño maría.

10.- Fase orgánica (II), en donde se obtuvo un aproximado de 21-28ml, llevar a casi a sequedad bajo corriente de nitrógeno y en termoblock a unos 70-75°C.

10.1.- Dejar un aproximado de 5ml.

11.- Concentrar fases (I, II) por separado, llevando a sequedad total.

12.- Resuspender con 25 µl de derivatizante cada una.

13.- Trasvasar y juntar las suspensiones a un nuevo tubo de ensaye.

14.- Incubar 25min en termoblock a 70-75°C.

15.- Dejar enfriar e inyectar 1.5- 3 µl al equipo GS-MS.

5. CARACTERÍSTICAS DE LA RAMPA Y CONDICIONES DEL EQUIPO. ^{10, 41}

MS Conditions:

Solvent Delay: 5-6 min.

MS Scan Parameters

Star time	Mass ranger		Threshold sampliny		Scan/sec.	MS window 1 mass renger		MS window 1 mass renger	
	Low	high				Low	high	Low	high
3	50.0	500.0	20	1	6.10	50.0	550.0	50.0	550.0
	50.0	450.0	600	4	0.96	50.0	550.0	50.0	550.0
	50.0	450.0	600	4	0.96	50.0	550.0	50.0	550.0

Tabla 3. MS Scan Parameters del equipo utilizado

Oven:

Oven Ramp	°C/ min	Nex °C	Hold min
/		150	1 min
/	15	230	3 min
/	10	250	3 min
/	10	280	3 min

Tabla 4. Oven (temperatures).

Inlests:

Fron: EPC split-splitless inlet

Mode: splitless Gas: He.

Heater °C: varia

Pressure, psi.: varia

Total flow, mL/min. Varia.

7. RESULTADOS:

- 1) **Extracción líquido-líquido con un sistema: donde la extracción (agitación) se realiza en forma manual o en vórtex para los metabolitos de la cocaína y THC.**

Extracción de manera manual (5min aprox.).

Se noto que aun cuando se lleguen a realizar dos extracciones se puede obtener el metabolito en algunas ocasiones. Mientras que realizando tres extracciones y agitando de forma manual se observa la presencia del metabolito en todas las muestras. Si se realizan las 4 extracciones, se obtienen resultados positivos hasta con las muestras que están con concentraciones bajas.

Extracción en vórtex (5min aprox.)

En este caso no se obtuvo reproducibilidad, puesto que aun cuando se realizaran cuatro extracciones en la mayoría de los casos no se observa la presencia del metabolito y por lo tanto tampoco el resultado deseado.

Cabe mencionar que el vórtex, como su mismo nombre lo dice, genera un vórtice y no llegan a tener un buen choque o contacto los solventes y el metabolito.

2) Extracción líquido-líquido con un sistema de diferentes veces de extracción (en muestras de orina que presuntamente son positivas) para los metabolitos de cocaína y THC:

No. De extracciones	1	2	3	4
	No se obtiene el metabolito	No se llega a obtener el metabolito, en caso de obtenerlo, la abundancia obtenida en el espectro de masas es mínima	Se obtiene bien el metabolito, se aprecia definido en el cromatograma de gases y una abundancia mayor en el espectro de masas.	La presencia del metabolito es mas que clara, obteniendo un excelente espectro (gases y masas).

Cuadro 5. Resultados de las extracciones.

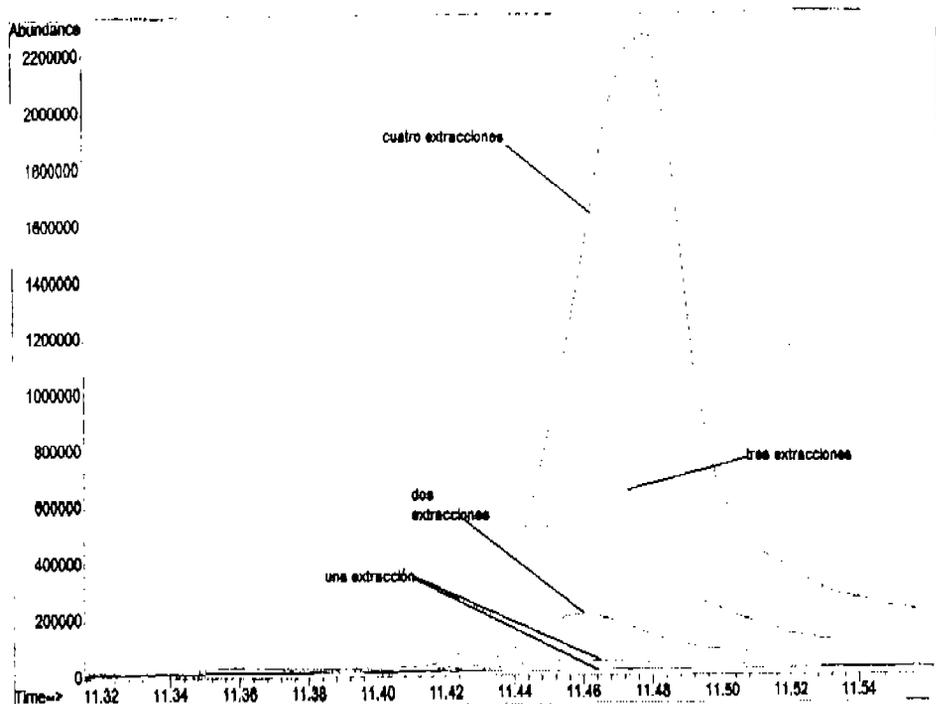


Figura 29. Grafico de apreciación de la abundancia con respecto al número de extracciones.

3 Extracción líquido-líquido con un sistema de disolventes (en el caso de la extracción de la benzoilecgonina):

Cloroformo : etanol

Se obtiene el resultado deseado no hay complicaciones y se puede trabajar bien con este sistema

Cloroformo : 2-propanol

Se observo un resultado positivo y en el caso de muestras que tienen concentraciones bajas también se obtiene el resultado deseado, un poco bajo pero confiable.

4) Participación del pH en la extracción de los metabolitos (cocaína y THC) de drogas de abuso en orina.

Para realizar la extracción el THC es conveniente explicar que este metabolito es eliminado de forma soluble y conjugado en la orina por lo que el primer paso de la extracción es romper el enlace del ácido glucorónico con el delta-9-THC; posteriormente se realiza la precipitación del metabolito por medio del cambio de pH el cual esta reportado que el adecuado es de entre 2 y 3, para que este no sea soluble en un medio acuoso y pueda ser arrastrado por un sistema de solventes no polares.

Con lo que respecta a la extracción del metabolito de la cocaína se tiene reportado que el pH adecuado para la precipitación y extracción del mismo es de entre un pH de 9 y 10.

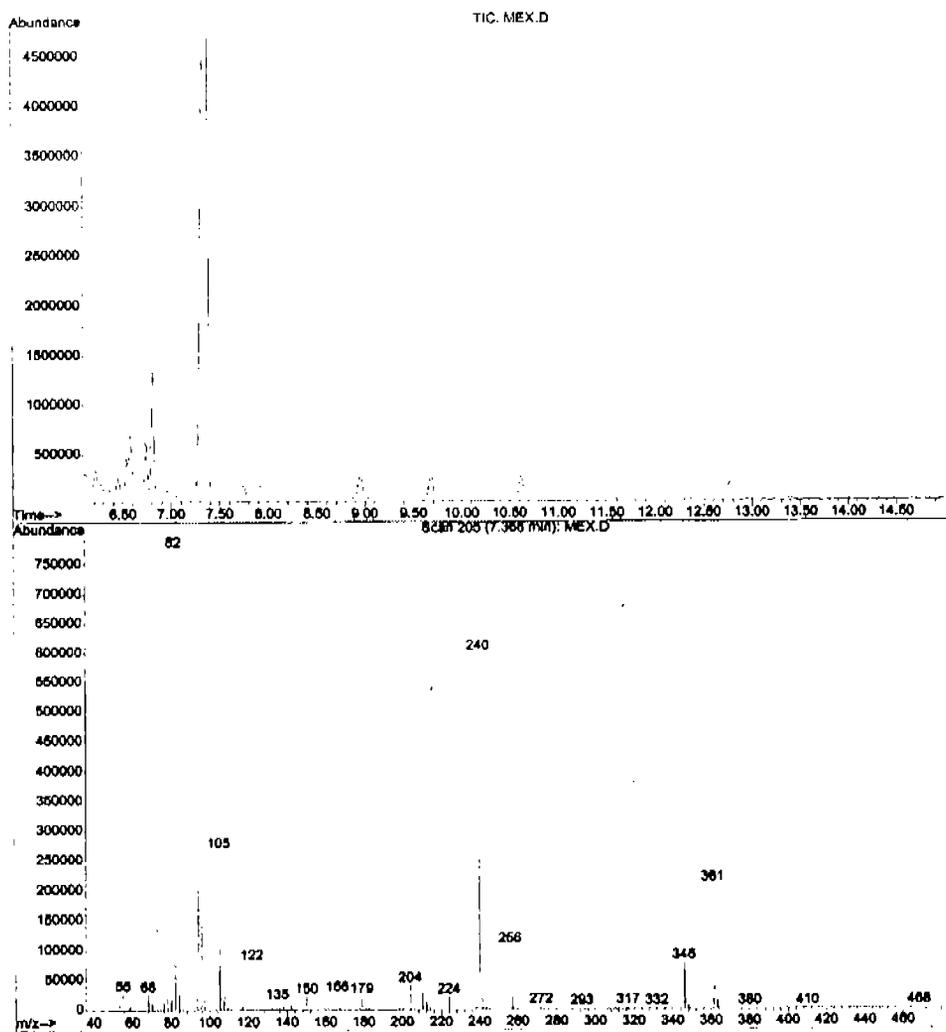
5) Extracción líquido-líquido para la estandarización de la identificación y confirmación de la presencia de mas de un metabolito (benzoilecgonina y el delta-9-THC) de drogas de abuso en una misma muestra de orina.

Al realizar esta marcha analítica se identifico y confirmo la presencia de los dos metabolitos en una misma muestra de orina. Teniendo este mismo resultado en las cincuenta (50) muestras trabajadas y que fueron todas positivas para ambos metabolitos en el análisis presuntivo (kit's).

Con lo que respecta a las condiciones del equipo se creo una rampa adecuada para que pudiera observarse la presencia de los dos metabolitos; teniendo bien resueltos los picos y una abundancia notable y al momento de monitorearlos en el espectro de masas se observan claramente las señales correspondientes a los iones característicos para cada metabolito.

ESPECTRO DE GC/MS para los dos metabolitos en una misma muestra de orina
(benzoilecgonina y delta-9-THC)

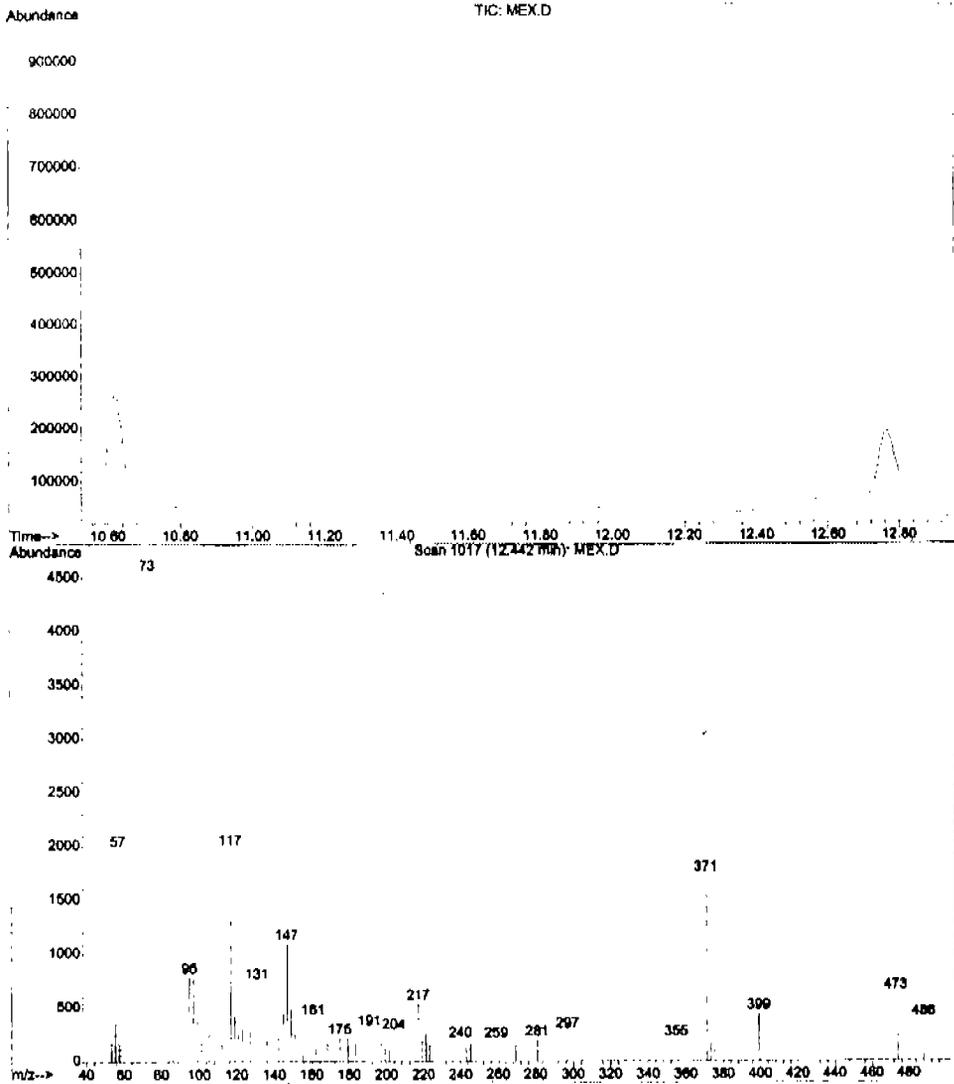
Cromatograma de gases



Espectro de masas denotando los iones característicos del metabolito.

Figura 30. Espectro del CG/MS para los dos metabolitos en una misma muestra de orina.

Cromatograma de gases



Espectro de masas denotando los iones característicos del metabolito.

Figura 30. Espectro del CG/MS para los dos metabolitos en una misma muestra de orina.

8. DISCUSIONES.

- 1) **Extracción líquido-líquido con un sistema: donde la extracción (agitación) se realiza en forma manual o en vórtex para los metabolitos de la cocaína y THC.**

Con este sistema se logro comprobar que la extracción (agitación) manual es por demás adecuada respecto de la extracción con vórtex; manualmente se observa la presencia y abundancia de los metabolitos mientras que en el vórtex solo se genera un vórtice y no se logra una interacción suficiente entre los solventes y los metabolitos.

Cuando la agitación fue manual se detectaron los metabolitos en todas las muestras que eran positivas en el análisis presuntivo, mientras que cuando la agitación se realizó en el vórtex se detectaron los metabolitos sólo en menos del 45% de las (100) cien muestras trabajadas para cada metabolito.

- 2) **Extracción líquido-líquido con un sistema de diferentes veces de extracción (en muestras de orina que presuntivamente son positivas) para los metabolitos de cocaína y THC:**

Una sola extracción no es suficiente para que el metabolito que esta en suspensión en orina pueda ser arrastrado a un medio de solventes en donde pueda ser extraído y posteriormente concentrado, por lo que se recomienda que se realicen un mayor numero (tres o cuatro) de extracciones, y así lograr una mayor recuperación del metabolito.

3) Extracción líquido-líquido con un sistema de disolventes (en el caso de la extracción de la benzollecgonina):

Al combinar un solvente no polar y uno con polaridad baja, se logra una mejor condición para facilitar la extracción y que el metabolito sea arrastrado a la fase de disolventes con una mayor afinidad. Este resultado puede estar relacionado con el hecho de que los dos disolventes que se probaron son similares tanto en su estructura como en las propiedades fisicoquímicas por lo que la afinidad del metabolito por estos disolventes es muy similar.

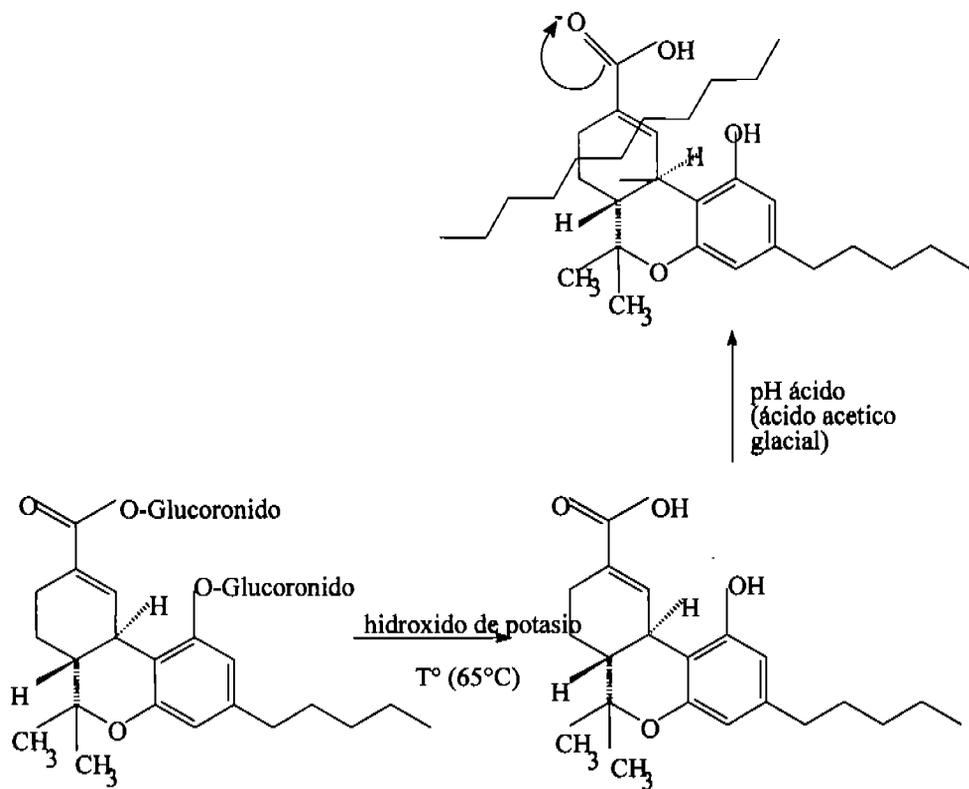
4) Participación del pH en la extracción de los metabolitos (cocaína y THC) de drogas de abuso en orina.

El proceso de biotransformación de un xenobiótico consiste en una serie de reacciones o pasos enzimáticos los cuales van a favorecer su eliminación aumentando su solubilidad para poder ser excretados en algún fluido biológico, principalmente la orina.

Por este motivo el procesamiento de las muestras está encaminado a reducir esa solubilidad de los metabolitos en la orina para que puedan ser extraídos con disolventes orgánicos o no polares.

Esto se consigue en nuestro caso modificando el pH del medio para poder extraer los metabolitos.

El 11,nor-9,carboxi- delta 9-THC, mono/digluconido es una sal orgánica polar, por lo que es soluble en el agua o mejor dicho en este caso, soluble en la orina. Es así como puede ser más fácilmente eliminada por filtración glomerular y secreción tubular (rifión). El objetivo de adicionar un ácido es para des-ionizar a la molécula para así poderla extraer con un sistema de solventes no polares y uno ligeramente polar. Esquema 5.



Esquema donde se observa la des-ionización de la molécula.

Esquema 5. Des-ionización de la estructura molecular del Δ -9-THC/glicoronido.

5) Extracción líquido-líquido para la estandarización de la identificación y confirmación de la presencia de mas de un metabolito (benzoilecgonina y el Δ -9-THC) de drogas de abuso en una misma muestra de orina.

Con los resultados y análisis previos se pudo realizar simultáneamente la identificación y confirmación de la presencia de los dos metabolitos a analizar en todas las (50) cincuenta muestras que se trabajaron y que fueron positivas en el análisis presuntivo.

Con respecto a las condiciones del equipo se tuvieron que ajustar las temperaturas para tener tiempos de retención adecuados para ambos metabolitos en una misma corrida. Se realizaron diferentes corridas para poder obtener señales con una abundancia y resolución aceptables de los picos en el cromatógrafo de gases y en las señales del espectro de masas.

9. CONCLUSIONES:

La agitación manual es la forma más adecuada para lograr un mayor recobro del metabolito.

Realizando tres extracciones se garantiza que los resultados obtenidos serán los esperados, reproducibles y confiables.

En muestras que presentan una baja concentración de metabolitos, se recomienda usar dos sistemas de solventes con diferente polaridad y realizar un mínimo de 4 extracciones.

No se notaron cambios significativos en cuestión a la modificación de uno de los disolventes, en el caso de la extracción del metabolito de la cocaína.

Al variar las condiciones del equipo (rampa, columna, tiempos) se mejora la detección de las señales transmitidas tanto en el cromatógrafo de gases y el espectro de masas.

El derivatizante usado (BSTFA con 1% de Si $(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$) es el adecuado y cumple con su función, el proporcionar una mayor estabilidad en el proceso de incubación e inyección.

La farmacocinética de las drogas estudiadas son de gran importancia para poder conocer sus principales metabolitos; el como y en que forma son eliminados.

Es de suma importancia conocer las características del equipo y las propiedades fisicoquímicas de los metabolitos, para así poder elegir adecuadamente el medio de extracción, los solventes adecuados para economizar y proteger el equipo.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Bruneton J., 2001, Farmacognosia, Fitoquímica plantas medicinales. 3a. Edición, Editorial Acribia, Zaragoza, España, pp. 1099.
2. Cabrera, B. R., et al. 1994. Toxicología de los Psicofármacos; 1ra. Reimpresión. Ed. Mosby/dogma libros, Madrid, España. pp.362
3. Casarett, L. J., 1975. Toxicology the basic science of poisons, Ed Mac Millan, New York, USA, pp. 768
4. Chamberlain J., 1995 The Analysis of Drugs in Biological Fluids. Second edition. Editorial CRC press, pp. 351
5. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, CD, PLM, México, 2004.
6. Enciclopedia Multimedia Encarta, CD, México, 2004
7. Galen, W. E., 1997. Analytical Instrumentation Handbook. 2da Ed., New York, USA, pp. 1453.
8. Goodman G., A. 1991. Las bases farmacológicas de la terapéutica, 8va. Ed, Panamericana, México, pp. 1653.
9. Jain, R., Ray, R., 1995, Detection Of Drugs Of Abuse And Its Relevance To Clinical Practice, Indian Journal of Pharmacology, 27(1):1-6
10. LABORATORIO NACIONAL DE SERVICIOS CRIMINALÍSTICOS DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE COORDINACIÓN DE SERVICIOS PERICIALES DE LA PROCURADURÍA GENERAL DE LA REPÚBLICA.
11. Lic. Sánchez Bruzon, Juan Francisco, especialista en toxicología forense y miembro de la sociedad cubana de toxicología.
12. Lizasoain, I., Moro, M.A., COCAÍNA; Aspectos farmacológicos. Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.
13. Madden, J.S., 1986, Alcoholismo y Farmacodependencia. Ed. el manual moderno, D.F México, pp. 351
14. Miller, R., D., 1994, Anestesia. 4ª ed. New York, USA pp. 163
15. Moffat, C., et al. 1986. Clarke's Isolation And Identification Of Drugs, 2da Ed., The pharmaceutical press, London, England.
16. Niles, L.P., Smith, L.J., Tenn, C.C., 1997. Modulation of c-fos expression in the rat striatum by diazepam. Neuroscience Letters Oct 24; 236(1):5-8.
17. Oliva, M., V., 2001. Manual de Toxicología para la carrera de Q.F.B. UNAM. FES-Cuautitlan, México.
18. Reg D., Frearson M., 1987. Mass Spectrometry Analytical Chemistry by Open Learning. Second Edition. Editorial. John Wiley & Son, pp. 603
19. Silverstein, R., M., et al, 1991. *Spectrometric Identification Of Organic Compounds*, John Wiley & Sons 5ª Edition, New York, USA, pp. 256
20. Skoog. D.A., 1997. *Fundamentos De Química Analítica*. Cuarta Edición. Editorial Reverte S.A., Barcelona, España, pp. 981
21. Wagner H., Blatt S., 1996. Plant drug analysis : a thin layer chromatography atlas, 2da Ed, New York, USA, pp. 384
22. Willard H., H., et al 1991. Métodos Instrumentales De Análisis, Grupo Editorial Iberoamericana, México, pp. 859.

23. www.biochemicaldiagnostics.com/marzo-abril-2005
24. www.biopsychiatry.com/marzo-abril-2005
25. www.cannabis.net/cannabinoids/pharmok.html/marzo-abril-2005
26. www.colegiofarmaceutico.cl/files/La_Marihuana.doc/marzo-abril-2005
27. www.copeson.org.mx/toxicologia/toxiadolescentes.htm./marzo-abril-2005
28. www.easp.es/pepsa/estudios+y+documentos/monografiapiodes.htm/marzo-abril-2005
29. www.el-mundo.es/salud/marzo-abril-2005
30. www.encyclopaedic.net/enciclopedia/marzo-abril-2005
31. www.es.wikipedia.org/wiki/cannabis/marzo-abril-2005
32. www.escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/Neurologia/cuadernos/2001/01.htm
33. www.marijuananeews.com/news.php3?sjd=82/marzo-abril-2005
34. www.medlineplus.gov/spanish/marzo-abril-2005
35. www.mind-surf.net/drogas/anfetamina.htm/marzo-abril-2005
36. www.mind-surf.net/drogas/coca.htm/marzo-abril-2005
37. www.mind-surf.net/drogas/index.htm/marzo-abril-2005
38. www.mind-surf.net/drogas/opiaceos.htm/marzo-abril-2005
39. www.monografias.com/trabajos15/toxicos/toxicos.htm Lic. José Nahily Ramírez Zúñiga. /marzo-abril-2005
40. www.QMS.gob
41. www.pgr.gob.mx/marzo-abril-2005
42. www.richrom.com/assets/CD23PDF/102.html. Toderici, A.M., and Radulescu, V. 2002. Determination Method Of Major Stupefiant And Metabolites From Human Urine. /marzo-abril-2005
43. www.uam.es/departamentos/medicina/anest/farmacologia/diazepam.htm/marzo-abril-2005
44. Yinon, J., 1995. Forensic Applications of Mass Spectrometry. Editorial Borrada, Florida, USA, pp.296
45. Zweig, S., 1992. Farmacos de abuso: prevencion, informacion farmacologica y manejo de intoxicaciones / Secretaria de Salud, Subsecretaria de Coordinacion y Desarrollo, Consejo Nacional contra las Adicciones, Coordinacion General, Mexico: SSA : CONADIC, pp 455.

11. ABREVIATURAS

GC/MS: Cromatógrafo de Gases Acoplado a Espectrómetro de Masas.

Δ -9-THC: Delta-9-Tetrahydrocannabinol

BSTFA con 1% de Si (CH₃)₃ · Cl: Derivatizante comercial