

Trabajo Original

Toxicología Analítica

Estudio de la composición química de incautaciones de cocaína en Chile mediante HPTLC, GC/FID y FTIR

Boris E. Duffau *, Sonia A. Rojas, María E. Espinoza, Sebastián Jofré y Liliana Muñoz.

Sección análisis de Drogas, Instituto de Salud Pública de Chile

Correo autor: bduffau@ispch.cl

Resumen

La cocaína es una de las drogas de abuso más consumida en nuestro país, las autoridades realizan permanentemente esfuerzos con el fin de disminuir la oferta y la demanda de drogas, en este contexto se hace necesario, desde el punto de vista de la toxicología y la inteligencia policial establecer métodos confiables que permitan con un bajo costo poder determinar la composición de las incautaciones de cocaína. Para esto el Instituto de Salud Pública de Chile, mediante la sección análisis de drogas, está encargado de analizar todas las incautaciones de cocaína y posteriormente enviar esta información a la Fiscalía quien empleará este informe como prueba en los tribunales. Con el fin de elaborar este estudio acerca de la composición de los decomisos de cocaína se implementaron metodologías analíticas por Cromatografía Planar Instrumental (HPTLC), Cromatografía de gases con detector de ionización de llama GC/FID y Espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). Una vez validadas estas metodologías, se compararon las técnicas descritas y posteriormente se analizaron 198 muestras reales. Los resultados revelaron que el 67.7% de las muestras corresponde a cocaína base con un promedio de pureza cercano al 35.0%. Dentro de los principales diluyentes los carbonatos (el 28% de las muestras contenía carbonato), almidón y azúcar. Respecto de los adulterantes el principal fue cafeína y lidocaína, entre la muestras de clorhidrato de cocaína se detectó la presencia de levamisol. Este es el primer estudio que se realiza en Chile acerca de la composición de los decomisos de cocaína y sienta las bases para que se continúen realizando investigaciones con que aporten datos en el campo de la toxicología, inteligencia policial y persecución del tráfico de drogas.

Palabras clave: *Drogas de abuso, cocaína, incautaciones, cromatografía, diluyentes, adulterantes*

Abstract

Cocaine is one of the most consumed drugs of abuse in our country, authorities constantly are making efforts in order to reduce the supply and demand for drugs, in this context it is necessary from the point of view of toxicology and police intelligence, to develop methods with low cost to determine the composition of cocaine seizures. For this reasons the Public Health Institute of Chile, through the drug testing laboratory, is responsible for analyzing all cocaine seizures and then send this information to the prosecutor who will use this report as evidence in court. In order to develop this study about composition of cocaine seizures, an Instrumental Planar Chromatography (HPTLC), Gas chromatography with flame ionization detector GC / FID and Infrared Fourier Transform Spectroscopy (FTIR) methods were implemented. Once validated and compared these methodologies, 198 real samples were analyzed. The results showed that 67.7% of the samples correspond to cocaine base with a 35.0% of purity. The main diluent was sodium carbonate (28% of the samples contained sodium carbonate); starch and sugar also were detected. The main adulterant was caffeine and lidocaine between cocaine hydrochloride samples the presence of levamisole also was detected. This is the first study performed in Chile about the composition of cocaine seizures and set the basis in order to continue the research to provide data in the field of toxicology, police intelligence and prosecution of drug trafficking.

Key Words: *Drugs of abuse, cocaine, seizures, chromatography, diluents, adulterants*

Introducción

La metilbenzoilecgonina o cocaína es el principal alcaloide de *Erythroxylum coca* [1], esta sustancia estimulante tiene una larga historia de uso y desafortunadamente de abuso, lo que la convierte en un serio problema debido a que es relativamente fácil de conseguir y es altamente adictiva[2]. Las formas de consumo de la cocaína son variadas entre ellas destacan la vía intranasal (esnifar), endovenosa o fumar la cocaína en forma de base. Las propiedades estimulantes de la cocaína la hacen una de las drogas de abuso más usadas[3], sin embargo en la mayoría de los países el mercado ilícito de la cocaína implica que la mayoría de las veces está adulterada o diluida con sustancias químicas que no son parte del proceso de extracción de la cocaína desde la hoja de coca[4]. Los adulterantes son sustancias químicas que tienen alguna propiedad farmacológica que se asemeja a la droga de abuso y son agregados con el fin de potenciar el efecto de la misma, en algunos casos estos adulterantes pueden llegar a ser más peligrosos que la droga de abuso propiamente tal, entre estos destacan la cafeína, lidocaína y levamisol[5][6]. Los diluyentes a su vez, son compuestos químicos orgánicos o inorgánicos que no presentan propiedades farmacológicas significativas, pero que son agregados para aumentar el peso de la unidad de dosis comercializada. En el año 2007 el reporte mundial de Naciones Unidas acerca del consumo de drogas estimó que 14.3 millones de ciudadanos usan cocaína, (0.3% de ese total son personas de 15 a 64 años de edad) [7]El aumento del consumo de drogas es un tema que preocupa debido a que las muestras han ido en aumento desde el año 2006 (18.699 muestras) a 44858 muestras en 2012. Debido a esto es que se requiere de metodologías analíticas rápidas y confiables que permitan dar una respuesta oportuna a la fiscalía que persigue el tráfico ilícito de sustancias estupefacientes y psicotrópicas. Las metodologías seleccionadas para este estudio fueron la cromatografía planar instrumental HPTLC[8], cromatografía gaseosa (GC/FID)y la espectrofotometría infrarroja FTIR, técnicas muy robustas y permiten tener resultados confiables acerca de la composición química de la cocaína incautada[9]. Desde el punto de vista de inteligencia y seguridad nacional la identificación de los adulterantes y diluyentes juega un rol fundamental en la identificación de origen de la droga, rutas de entrada al país, traficantes[10], mientras que desde la perspectiva toxicológica la determinación de las impurezas de las drogas de abuso da cuenta de la peligrosidad de las sustancias ilícitas [11] que se consumen en el país[12]. A la fecha no existe información científica publicada respecto de la composición de las incautaciones de cocaína en Chile, por lo que se hace muy importante determinar la composición de los decomisos, así como en otros países, Chile muestra un incremento en las incautaciones de drogas especialmente de cocaína base, la cual es considerada más tóxica que el clorhidrato de cocaína debido a los residuos de solventes e impurezas

que permanecen en el producto final y la vía de administración. Estudios revelan que el abuso de cocaína provoca un incremento en el daño pulmonar y cardiovascular pudiendo llevar a la muerte del consumidor[12][13][14]. Una vez implementados los métodos fueron validados y los resultados obtenidos comparados para establecer si existen diferencias estadísticamente significativas entre ellos. El porcentaje de cocaína (como cocaína base) de 31 muestras reales fue analizadas de forma simultánea por GC/FID y HPTLC el análisis estadístico fue realizado utilizando el software STATGRAPHICS CENTURION XVI ® mediante análisis de varianza (Test -F) y la prueba de Wilcoxon , que consiste en una prueba de comparación de desviaciones estándar (SD) no paramétrica para muestras pareadas[15]. Los métodos empleados pueden ser utilizados en laboratorios forenses de rutina debido a su fácil implementación, robustez y versatilidad y entregan resultados confiables que pueden ser utilizados como pruebas periciales o con fines de inteligencia policial.

Materiales y métodos

Reactivos y materiales de referencia: Cocaína obtenida de Cerilliant. Lidocaína, Procaína, levamisol, cafeína, fenacetina y Aminopirina fueron conseguidas de Sigma Aldrich. Metanol, ciclohexano, dietilamina grado HPLC (Merck, Alemania)

1 Cromatografía planar instrumental HPTLC

La cromatografía fue desarrollada en placas de sílica gel de 20 x10 cm con indicador de fluorescencia F₂₅₄ activadas previamente a 80°C por 30 minutos. Estándares y muestras fueron aplicados en bandas de 4 mm con un autosampler CAMAG ATS4 y desarrolladas en una cámara de desarrollo automática ADC2 (CAMAG), utilizando una mezcla de ciclohexano/dietilamina 9/1v/v como fase móvil. Las placas fueron detectadas mediante un scanner a una longitud de onda de 254 nm en un Scanner TLC 4 CAMAG, para confirmación se tomaron los espectros de cada banda entre 200-400 nm. El proceso se realizó mediante el control por el software Wincats 1.4.7 de CAMAG, Suiza.

2 Espectrofotometría infrarroja FTIR

Para estos análisis se empleó un espectrofotómetro con transformador de Fourier (Jasco modelo 4100) equipado con dispositivo de reflectancia total atenuada ATR, este equipo permite establecer si la cocaína presente en la muestra se encuentra como cocaína base o clorhidrato, esta técnica además permite determinar la presencia de diluyentes como el almidón, carbonato de sodio y azúcares por comparación con la biblioteca de espectros *Know it all Jasco IR Edition 2010*®. Los espectros fueron tomados de 400-4000 cm⁻¹. Previamente a su uso en rutina los métodos fueron validados según los parámetros recomendados por AOAC [16]

3 Cromatografía gaseosa con detector de ionización de llama GC/FID

Esta técnica ha sido ampliamente utilizada para la determinación de cocaína en incautaciones y en matrices biológicas por su versatilidad y fácil uso[17][18], Para este estudio se utilizó un Cromatógrafo gaseoso marca Agilent Technologies modelo 6890 equipado con autosampler y detector de ionización de llama; las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

Inyector: T°: 250°C, Presión: 7.96 psi, Flujo total: 14.0ml/min, Volumen Inyección: 1µL Split 1:25

Columna cromatográfica: HP-5 (5% fenilmetil siloxano 30m x 320µm x 0.25µm), Flujo constante: 1.0 mL/min. Presión: 7.96 psi. Velocidad Promedio: 23cm/seg.

Programa de Temperatura: inicial 150°C x 0 min; 25°C/min a 300°C x 5 min
Tiempo total 11 min

Detector: T° 300°C. Flujo Hidrógeno: 30 mL/min, Flujo Aire: 350 mL/min, Make up Helio 10 mL/min

1. Comparación de metodologías HPTLC y GC/FID

Para comparar el desempeño de las técnicas de cromatografía planar instrumental y la cromatografía de gases se emplearon 31 muestras reales, las que se analizaron simultáneamente por ambas metodologías, para estos fines se utilizó la prueba F para comparar las desviaciones estándar (SD) de muestras pareadas mediante el test no paramétrico de Wilcoxon (W). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1

2. Muestras reales de incautaciones

En este estudio se analizaron 198muestras reales incautadas por la policía de Chile en 2012, cada una de más de 10 gramos de peso neto, las que fueron enviadas a la Sección Análisis de Drogas del Instituto de Salud Pública de Chile, para confirmar presencia de cocaína y realizar la determinación de la concentración de la misma en cada muestra según lo indica la actual legislación.

Resultados y discusión

Los métodos empleados resultaron ser satisfactorios para el fin previsto, ya que presentan adecuada especificidad, precisión y exactitud, la figura 1 muestra un densitograma con los principales adulterantes evaluados en este estudio. Al comparar los dos métodos cromatográficos se evidencia que son similares y no presentan diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, De particular interés son el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada que pueden usarse para comparar si las

muestras provienen de distribuciones normales. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar las pruebas que comparan las desviaciones estándar. En este caso, ambos valores de sesgo estandarizado se encuentran dentro del rango esperado. Los valores de la prueba de F y el test de Wilcoxon demuestran que ambas metodologías entregan resultados comparables entre sí. También se aplicó una prueba-t para evaluar hipótesis específicas acerca de la diferencia entre las medias de las poblaciones de las cuales provienen las dos muestras. En este caso, la prueba se ha construido para determinar si la diferencia entre las dos medias es igual a 0,0 versus la hipótesis alterna de que la diferencia no es igual a 0,0. Puesto que el valor-P calculado no es menor que 0,05, no se puede rechazar la hipótesis nula. La prueba W de Mann-Whitney (Wilcoxon) para comparar las medianas de dos muestras se construye combinando las dos muestras, ordenando los datos de menor a mayor, y comparando los rankings promedio de las dos muestras en los datos combinados; como el valor-P es mayor o igual que 0,05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un 95,0%. Al ejecutar una prueba-F para comparar las varianzas de las dos metodologías se construyen intervalos de confianza para cada desviación estándar y para la razón de varianzas, de particular interés es el intervalo de confianza para la razón de varianzas, el cual se extiende desde 0,556301 hasta 2,39279; puesto que el intervalo contiene el valor de 1, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar de las dos muestras con un nivel de confianza del 95,0%. Al confeccionar la prueba-F para evaluar una hipótesis específica acerca de las desviaciones estándar de las poblaciones de las cuales provienen las dos muestras, la prueba se ha construido para determinar si el cociente de las desviaciones estándar es igual a 1,0 versus la hipótesis alternativa de que el cociente no es igual a 1,0; puesto que el valor-P calculado no es menor que 0,05, no se puede rechazar la hipótesis nula, siendo ambas varianzas comparables entre sí, lo anterior queda refrendado en el gráfico de cajas y bigotes donde se evidencia la homogeneidad de varianzas entre ambos métodos(figura 3) .

El estudio de la composición de las 198 muestras reales reveló que el 67.7% corresponde a cocaína base ($n=134$) mientras que el 32.3% fue clorhidrato de cocaína ($n=64$); este es un tema importante desde la perspectiva de la toxicidad de la sustancia ya que la prevalencia de cocaína base implica una mayor toxicidad debido a la forma de administración, puesto que al ser fumada la cocaína base alcanza rápidamente altos niveles de concentración en la sangre y en el sistema nervioso central pero su tiempo de duración es más corto que el clorhidrato de cocaína, por esta razón quienes consumen cocaína base requieren de repetidas dosis para experimentar el efecto estimulante, siendo un factor preponderante en el alto poder adictivo de esta sustancia.

Respecto de la concentración de cocaína en las muestras se encontró que las muestras de cocaína base tienen una concentración promedio de 35.09% p/p, con un rango concentración de 0.80% a 73.00%, mientras que para el caso de la cocaína al estado de clorhidrato se encontró una concentración promedio de 32.77% p/p con un rango de 2.00% a 83.00% p/p. Los resultados de estas muestras se exhiben en la tabla 2. Respecto de las sustancias acompañantes de la cocaína en las muestras destacan los diluyentes tales como el carbonato de sodio, probablemente debido a su fácil obtención y bajo costo, en los ensayos realizados por FTIR se detectó en una de las muestras la presencia de cocaína mezclada con azúcares (dextrosa) en partes iguales (ver figura 2). Respecto de los adulterantes, el principal componente detectado fue la cafeína, mientras que fenacetina y levamisol están presentes pero en menor proporción. El 60.6% de las muestras analizadas contenían solamente cocaína sin presencia de ningún adulterante o diluyente de los incluidos en este estudio; un resumen de los resultados se muestra en la tabla 3.

Conclusiones

Según nuestra investigación este es el primer estudio que se realiza acerca de la composición de los decomisos o incautaciones de cocaína en Chile, y revela que al igual que en otros países de la región la cocaína se consume diluida y adulterada con una serie de sustancias que son agregadas por quienes comercializan esta sustancia, algunos de estos compuestos como son el levamisol y la fenacetina pueden llegar a ser incluso más dañinos que la propia cocaína [19], sin embargo estas sustancias no están incluidas en la legislación Chilena. Los análisis practicados revelan una prevalencia de la cocaína al estado de base por sobre el clorhidrato de cocaína, posiblemente debido a su bajo costo y alto poder adictivo, lo que aumenta los riesgos asociados al consumo de cocaína. El bajo porcentaje de cocaína presenta en cada una de las muestras analizadas revela una extensa adulteración de las muestras incautadas, lo que implica la necesidad del usuario de recurrir a nuevas dosis para experimentar el efecto estimulante buscado. Las metodologías analíticas aplicadas en este estudio demostraron ser confiables, rápidas y adecuadas al propósito, y pueden convertirse en una buena alternativa a otras metodologías más costosas. El análisis del perfil químico de las sustancias secuestradas puede ser de gran ayuda a las autoridades como herramienta para poder incluir nuevas sustancias a las listas de sustancias prohibidas, establecer perfiles de adulteración, poder ligar muestras entre sí y para investigar patrones de consumo y adulteración en el territorio nacional, todos estos aspectos se vuelven relevantes a la hora de poder combatir el flagelo del tráfico de drogas.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto de Salud Pública de Chile por proveer los insumos requeridos para este trabajo y a la Químico Farmacéutico Lorena Delgado por su continuo apoyo.

Tabla 1: Resultados de comparación de muestras por HPTLC y GC/FID

Muestra	Concentración de cocaína por HPTLC(%p/p)	Concentración de cocaína por GC FID(%p/p)
1	52,0	53,3
2	69,0	71,9
3	77,0	72,3
4	20,0	20,6
5	6,0	6,7
6	46,5	50,5
7	7,0	8,9
8	61,0	63,0
9	61,0	62,2
10	24,0	21,7
11	29,5	30,7
12	28,0	29,1
13	36,0	39,3
14	26,0	26,1
15	2,0	5,0
16	32,5	28,6
17	60,9	58,5
18	27,5	27,6
19	9,5	10,5
20	11,5	10,0
21	15,9	11,7
22	44,9	32,2
23	13,8	13,3
24	57,2	46,8
25	45,5	59,6
26	80,2	74,0
27	82,9	70,4
28	82,0	73,0
29	83,0	77,7
30	81,6	76,8
31	26,0	31,4
Promedio	41.90	40.70
SD	26.4	24.6
Sesgo Estandarizado	0,530892	0,247237
Curtosis Estandarizada	-1,44199	-1,67106
F = 1,15374 P-value = 0,697849 W = 471,0 P-value = 0,899165		

Figura 1: Densitograma HPTLC de los principales adulterantes estudiados en la izquierda, en A se muestran los picos de Cocaína (6) y los adulterantes: fenacetina (1), procaína (2), levamisol (3), cafeína (4), lidocaína (5); en el lado derecho (B) aparece el espectro UV del pico correspondiente a cocaína.

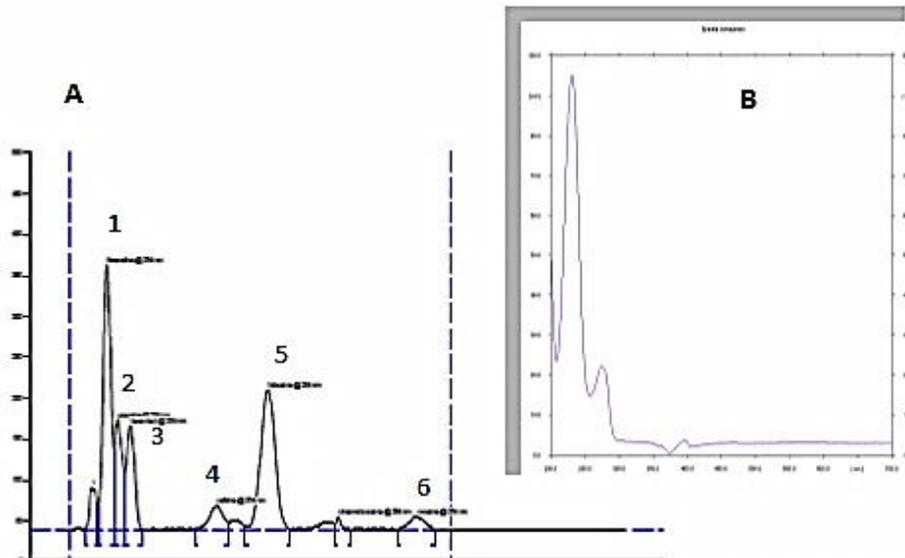


Tabla 2: Resumen de resultados de concentración de cocaína en muestras reales

Parámetro	Cocaína Base	Cocaína Clorhidrato
Muestras	134	64
Promedio (Concentración)	35,09%	32,77%
Desviación estándar	18,57	26,86
Coefficiente de variación	52,92%	81,97%
Mínimo (Concentración)	0,80%	2,0%
Máximo (Concentración)	73,00%	83,00%

Figura 2: Espectro infrarrojo (400-4000 cm^{-1}) de muestra real de cocaína mezclada con dextrosa

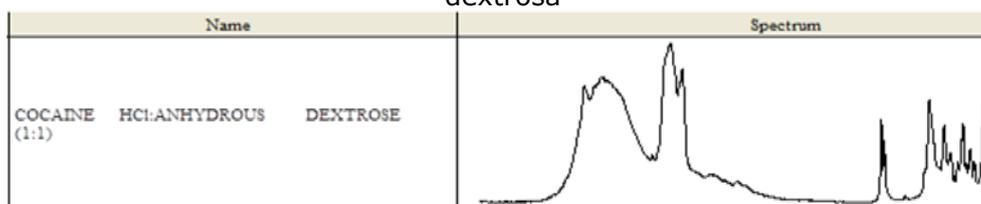
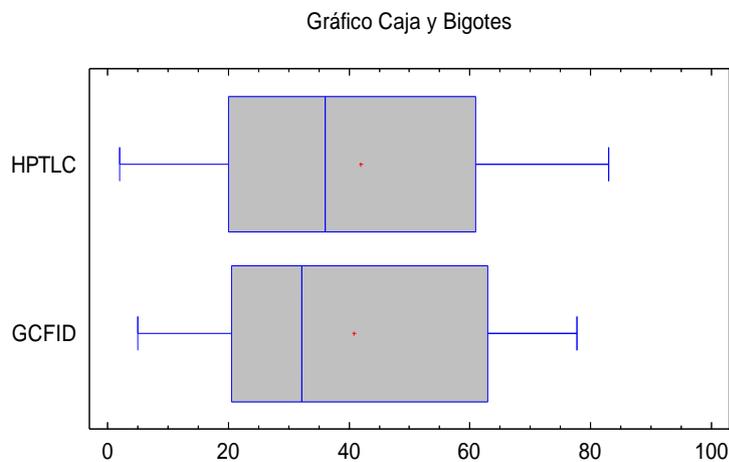


Tabla 3: Resultados de los principales adulterantes y diluyentes encontrados

Cocaína	Número de apariciones	Frecuencia
Base	134	67.70%
Clorhidrato	64	32.30%
Diluyentes	Número de apariciones	Frecuencia
Carbonato de sodio	56	28.30%
Almidón	2	1.01%
Azúcares	1	0.51%
Adulterantes	Número de apariciones	Frecuencia
Cafeína	28	14.10%
Lidocaína	12	6.06%
Fenacetina	4	2.02%
Aminopirina	3	1.52%
Levamisol	3	1.52%
Procaína	0	0.00%

Figura 3: Gráfico de cajas y bigotes para la comparación de los resultados obtenidos por ambas metodologías



Referencias bibliográficas

- [1] M. Chiarotti and N. Fucci, "Comparative analysis of heroin and cocaine seizures.," *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, vol. 733, no. 1-2, pp. 127-136, 1999.
- [2] J. Saiz, "El abuso de cocaína, ¿Problema de oferta o de demanda social?: Un estudio transcultural y correlacional que compara variables macrosociales, económicas y culturales - Dialnet," *Adicciones Rev socidrogalcohol*, vol. 19, no. 1, pp. 35-44, 2007.
- [3] J. L. Zimmerman, "Cocaine Intoxication," *Critical Care Clinics*, vol. 28, no. 4. pp. 517-526, 2012.
- [4] J. F. Casale, V. L. Colley, and D. F. Legatt, "Determination of phenyltetrahydroimidazothiazole enantiomers (Levamisole/Dexamisole) in illicit cocaine seizures and in the urine of cocaine abusers via chiral capillary gas chromatography-flame-ionization detection: clinical and forensic perspectives.," *J Anal Toxicol*, vol. 36, no. 2, pp. 130-5, 2012.
- [5] M. Shannon, "Clinical toxicity of cocaine adulterants.," *Ann Emerg Med*, vol. 17, no. 11, pp. 1243-1247, 1988.
- [6] J. A. Buchanan, R. J. Oyer, N. R. Patel, G. A. Jacquet, L. Bornikova, C. Thienelt, D. A. Shriver, L. W. Shockley, M. L. Wilson, K. M. Hurlbut, and E. J. Lavonas, *A confirmed case of agranulocytosis after use of cocaine contaminated with levamisole.*, vol. 6, no. 2. 2010, pp. 160-164.
- [7] S. Armenta and M. de la Guardia, "Analytical methods to determine cocaine contamination of banknotes from around the world," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 27, no. 4. pp. 344-351, 2008.
- [8] E. Della Casa and G. Martone, "A quantitative densitometric determination of heroin and cocaine samples by high-performance thin-layer chromatography.," *Forensic Sci Int*, vol. 32, no. 2, pp. 117-120, 1986.
- [9] M. Yonamine and M. C. Sampaio, "A high-performance thin-layer chromatographic technique to screen cocaine in urine samples.," *Leg Med (Tokyo)*, vol. 8, no. 3, pp. 184-187, 2006.
- [10] S. P. Sharma, B. C. Purkait, and S. C. Lahiri, "Qualitative and quantitative analysis of seized street drug samples and identification of source.," *Forensic Sci Int*, vol. 152, no. 2-3, pp. 235-240, 2005.

- [11] E. J. Magalhães, C. C. Nascentes, L. S. a Pereira, M. L. O. Guedes, R. a Lordeiro, L. M. L. a Auler, R. Augusti, and M. E. L. R. de Queiroz, "Evaluation of the composition of street cocaine seized in two regions of Brazil.," *Sci Justice*, vol. 53, no. 4, pp. 425–32, 2013.
- [12] C. N. Pozner, M. Levine, and R. Zane, "The cardiovascular effects of cocaine.," *J Emerg Med*, vol. 29, no. 2, pp. 173–178, 2005.
- [13] E. J. Cone, "Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cocaine.," 1995.
- [14] D. K. Hatsukami and M. W. Fischman, "Crack cocaine and cocaine hydrochloride. Are the differences myth or reality?," *JAMA*, vol. 276, no. 19, pp. 1580–1588, 1996.
- [15] G. W. Corder and D. I. Foreman, *Nonparametric Statistics for Non-Statisticians: A Step-by-Step Approach*. Wiley, 2009, p. 264.
- [16] B. Renger, Z. Végh, and K. Ferenczi-Fodor, "Validation of thin layer and high performance thin layer chromatographic methods.," *J Chromatogr A*, vol. 1218, no. 19, pp. 2712–2721, 2011.
- [17] P. Fernández, M. Aldonza, A. Bouzas, M. Lema, A. M. Bermejo, and M. J. Taberner, "GC-FID determination of cocaine and its metabolites in human bile and vitreous humor.," *J Appl Toxicol*, vol. 26, no. 3, pp. 253–257, 2006.
- [18] M. Janicka, A. Kot-Wasik, and J. Namieśnik, "Analytical procedures for determination of cocaine and its metabolites in biological samples," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 29, no. 3, pp. 209–224, 2010.
- [19] J. Crocker and J. Tremaglio, "Sniffing out a novel diagnosis: Glomerulonephritis induced by levamisole-tainted cocaine.," *J Hosp Med*, vol. 7, p. S209, 2012.

Recibido: 24/06/14

Aceptado: 04/07/14