

PRINCIPAIS MATRIZES BIOLÓGICAS E MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS PARA IDENTIFICAR COCAÍNA E SEUS PRODUTOS DE BIOTRANSFORMAÇÃO

GIULIANA SARA SIGGIA
MARCELO NERES VIEIRA
MIRIAM GODOY
MARCELO PIRES

Centro Universitário Nove de Julho; Av. Dr. Adolpho Pinto, 109, Barra Funda, São Paulo, SP, Brasil.

Autor responsável: G.S. Siggia. E-mail: gsara@ig.com.br.

INTRODUÇÃO

A cocaína é um dos alcalóides provenientes do arbusto *Erythroxylon coca*, encontrado na América do Sul. Segundo achados arqueológicos há aproximadamente 5.000 anos, as civilizações pré-incaicas já mascavam folhas de coca com finalidades religiosas e devido a suas propriedades estimulantes e euforizantes para reduzir a fadiga durante o trabalho (SIMÕES;GOODMAN, 2002, 2003).

Em 1859, a cocaína foi isolada, pela primeira vez, por Albert Niemann, que experimentou o composto recém-isolado e observou que o mesmo causava uma sensação de formigamento na língua (GOODMAN, 2003). Após vinte anos, Sigmund Freud foi responsável pela popularização do fármaco, no meio científico, como um método eficaz de tratamento para distúrbios nervosos.

Em 1884, escreveu o "Uber Coca", no qual concluiu seus estudos sobre o fármaco, enfatizando seu uso como estimulante mental, para tratamento de problemas digestivos, asma, para aumentar o apetite, como afrodisíaco, além de curar o vício a álcool e morfina. Quatro anos após sua publicação original, Freud reverteu sua posição, rendendo-se às evidências de que a "droga milagrosa" tinha uma série de inconvenientes, começando pelo seu potencial de criar dependência "cocainomania" que, em muitos casos, substituiu a "morfinomania" ou mesmo se combinava com ela. Em 1892, Freud publicou uma continuação de "Uber Coca", modificando o seu ponto de vista, originalmente favorável à cocaína (FERREIRA, 2001).

A cocaína foi introduzida na prática clínica, em 1884, por Carl Koller como anestésico tópico para a cirurgia oftalmológica. Alguns autores descrevem o emprego de cigarros de coca no tratamento para febre do feno (OGA, 2003). Além deste uso, também, era componente ativo de vários vinhos, licores, cigarros e charutos (FERREIRA, 2001).

No final do século XIX, entretanto, o interesse sobre a toxicidade da cocaína aumentou, devido aos crescentes casos de intoxicação e morte relacionados ao uso da droga. Em 1914, foi constituído, nos EUA, o *Harrison Narcotic Law*, primeiro instrumento legal de controle do uso de drogas, incluindo o ópio e a cocaína. No Brasil, lei semelhante só foi introduzida, em 1921, através do Decreto 4.294 (OGA; BOURNISSEN, 2003, 2007).

No início da década de 1970, ocorreu o seu ressurgimento com o uso "recreacional", devido ao conceito infundado de ser segura e não causar farmacodependência (OGA, 2003).

Atualmente, o uso abusivo de cocaína representa um problema cada vez maior para a sociedade, causando prejuízos, não somente aos usuários, como às suas famílias, amigos e ambiente onde trabalham e estudam (ODO *et al.*, 2000).

Segundo o relatório do ano 2003 da *United National Office for Drug Control and Crime Prevention* (UNODCP), o abuso e o tráfico de drogas seriam responsáveis por grande parte dos trinta mil homicídios praticados por ano no Brasil, e para cada assassinato, outras

vinte a quarenta pessoas seriam feridas e hospitalizadas (FOLLADOR, 2004).

No caso de atletas, um resultado positivo para cocaína no controle da dopagem pode refletir apenas o uso recreativo, mas existem relatos de atletas que fazem uso da droga, com a finalidade de melhorar o desempenho em atividades físicas, apesar de não haver qualquer evidência quanto aos efeitos ergogênicos da cocaína (YONAMINE, 2000).

A análise toxicológica é, sem dúvida, um meio seguro de diagnóstico laboratorial para verificar o uso de substâncias psicoativas, e pode ser utilizada em estudos farmacológicos e toxicológicos de diversos fármacos (CHASIN E MÍDIO, 1991), mas também em aplicações como prevenção e controle no meio ocupacional. Atualmente várias empresas realizam periodicamente exames para a detecção de drogas em seus funcionários, geralmente realizados em situações pré-admissionais, quando há suspeita de uso ou se observa baixo desempenho profissional (CAMPOS; YONAMINE, 2002, 2004).

Em investigação médico-legal, a análise toxicológica pode ser requisitada por autoridades competentes em casos de suspeita de direção sob influência de substâncias psicoativas, detecção do uso de drogas ilícitas como atenuante ou agravante em atos criminosos, comportamento violento, além da descoberta do uso em análise de material de necropsias (FASSINA, 2003).

No tratamento para dependentes, o objetivo é avaliar a confiabilidade do consumo prévio de cocaína em todos os pacientes, durante o período de seguimento dos ingressantes no programa terapêutico (FOLLADOR; YONAMINE, 2004). A utilização deste método também é de grande importância em emergência clínica, para verificar casos de sobredosagem e intoxicações (CHASIN, 1990).

Devido ao fato de a cocaína estar entre as principais drogas mais consumida por adolescentes com idades entre dez e 20 anos (além de álcool, tabaco, maconha e inalantes), refletiu-se sobre a possibilidade de realização de exames nas escolas do Brasil como método preventivo ao uso, apesar de críticas, principalmente com relação à violação dos direitos à privacidade da criança e do adolescente (OGA, 2003).

Diante desses fatos, a análise toxicológica constitui o método mais seguro de se comprovar a exposição humana à droga, tornando-se necessários estudos a respeito de diferentes espécimes biológicos (urina, unha, cabelo, sangue, e outros) e métodos de identificação que poderão ser utilizados em tais análises para ampliar o conhecimento em relação às vantagens e desvantagens de cada um, possibilitando que medidas de controle e prevenção sejam adotadas (CAMPOS, 2002).

A cocaína administrada em humanos é convertida, quase em sua totalidade, em produtos de biotransformação e eliminada na urina como benzoilecgonina (15 a 50%), ecgonina metil éster (15 a 35%), ecgonina (1 a 8%), norcocaína (2-6%) e na forma inalterada (cerca de 3%). A norcocaína é o único produto de biotransformação da cocaína reconhecidamente ativo e é formada pela atuação do citocromo P450. A ecgonina é formada pela consecutiva hidrólise de pequenas quantidades de benzoilecgonina e ecgonina metiléster representa cerca de 2 a 8% do total excretado na urina (OGA, 2003).

A presente revisão de bibliografia tem como objetivo realizar um levantamento das principais matrizes biológicas e métodos analíticos atualmente existentes para identificação da cocaína e de seus produtos de biotransformação.

REVISÃO DA LITERATURA E CONSIDERAÇÕES

A seleção da matriz biológica e da metodologia devem ser orientadas pela finalidade da análise, que constitui o fator determinante da precisão, exatidão, sensibilidade e especificidade necessárias (CHASIN, 1991).

A metodologia analítica para a identificação de cocaína sofreu um grande avanço desde a década de 70, já que a detecção e a quantificação deste fármaco apresentaram certas dificuldades em razão de sua curta meia vida e seu rápido e complexo processo de biotransformação (CHASIN, 1990).

Devido às implicações legais que os resultados das análises toxicológicas podem ter, a metodologia empregada para verificar o consumo, deve compreender duas etapas: triagem e confirmação (ODO, 1999).

A triagem é considerada uma etapa preliminar, na qual se utilizam técnicas analíticas com pouca ou nenhuma seletividade possibilitando a obtenção de resultados para um grande número de amostras em um curto intervalo de tempo. As mais utilizadas são as técnicas imunológicas e cromatográficas (ODO, 2000).

Entre as técnicas cromatográficas, as mais empregadas são a cromatografia em camada delgada, cromatografia gasosa com detector nitrogênio-fósforo ou ionização de chama e a cromatografia líquida de alta eficiência (ODO; YONAMINE, 1999, 2004).

Uma evolução da cromatografia em camada delgada são as placas de cromatografia em camada delgada de alta eficiência que são confeccionadas com granulações mais finas e homogêneas, possibilitando menor tempo de análise, melhor resolução cromatográfica e detecção de concentrações menores que aquelas observadas nas placas tradicionais (CHASIN; YONAMINE, 1990, 2004).

A cromatografia gasosa e a cromatografia em camada delgada apresentam vantagens como, boa especificidade e sensibilidade, possibilidade de se detectar várias substâncias numa mesma análise, além de custo acessível, (YONAMINE, 2000), contudo a aplicação dessas técnicas exige, antes da fase de identificação, a realização de uma etapa prévia de extração (ODO; YONAMINE, 1999, 2004).

A cromatografia líquida de alta eficiência é particularmente útil para análise de benzoilecgonina, pois devido ao seu caráter polar, pode ser cromatografada por esta técnica, sem necessidade da derivação (CHASIN, 1990).

As técnicas de imunoenensaio têm conquistado espaço entre os métodos de rotina, devido à facilidade e possibilidade de análise de um grande número de amostras, de forma automatizada, em minutos e sem etapa preliminar de extração e derivação. Apresentam alta sensibilidade, porém possivelmente podem ocorrer reações cruzadas pela presença de substâncias com estruturas químicas semelhantes. Por este motivo, resultados positivos provenientes da aplicação desta técnica devem ser considerados como indicativos, devendo ser confirmados por outra técnica analítica com princípios físico-químicos diferentes (ODO; YONAMINE 1999, 2000).

Os imunoenensaos utilizam anticorpo específico para benzoilecgonina e uma forma marcada desta, que pode estar ligada a um radioisótopo (radioimunensaio), enzimas (enzimaimunensaio) ou substância fluorescente (imunofluorescência polarizada) (ODO, 1999).

Para a etapa de confirmação utilizam-se sistemas compostos por cromatografia em fase gasosa ou cromatografia líquida com espectrometria de massa (YONAMINE, 2000).

A cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa é reconhecida em toda a literatura pesquisada como o instrumento mais sensível e específico para a análise da cocaína e de seus produtos de biotransformação em qualquer que seja o material biológico considerado. Esta técnica é também com muita frequência utilizada como método de referência para outros menos específicos, enzimaimunensaio (CHASIN; ODO; YONAMINE, 1990, 1999, 2000).

O estudo de matrizes biológicas alternativas para a comprovação dessa exposição aumenta as chances de se obter resultados satisfatórios na análise toxicológica. Além da urina, várias matrizes biológicas, incluindo sangue, cabelo, saliva, unha, suor, mecônio, sêmen, leite materno, tecido cerebral, líquido cefalorraquidiano, líquido amniótico, secreção gordurosa da pele, extrato córneo entre outros têm sido utilizadas para verificar a exposição à cocaína. Cada espécime apresenta vantagens e desvantagens dependendo da situação, do objetivo que se pretende alcançar, dos meios disponíveis para a análise e dos custos (FOLLADOR, 2004).

Atualmente, a urina é a matriz de escolha para a realização das análises toxicológicas para confirmar exposição recente há até quatro dias à cocaína, pois apresenta vantagens como: facilidade de coleta, que é realizada de modo não-invasivo; as análises possuem baixo custo; grandes volumes podem ser obtidos durante a coleta; e a concentração da droga e de seus produtos de biotransformação são mais altas quando comparadas com as de outras matrizes biológicas, permitindo a utilização de técnicas não tão sensíveis para a realização das análises de triagem. Além disso, existem valores de referência bem estabelecidos (YONAMINE, 2000).

Essa amostra biológica tem sido amplamente utilizada em programas de prevenção e controle do uso de drogas no ambiente de trabalho, em clínicas de tratamento, recuperação e em justiça criminal (FOLLADOR, 2004).

Na urina, pode-se identificar a droga inalterada, bem como seus produtos de biotransformação, sendo que 15 a 50% estão sob a forma de benzoilecgonina. As técnicas de escolha para triagem são os imunoenensaos, porém podem-se utilizar outras técnicas de triagem existentes, incluindo cromatografia em camada delgada, que é considerada menos sensível, além de menor custo, mas torna-se possível devido à alta concentração da substância inalterada e de seus metabólitos na urina. Para confirmação, a cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa é a técnica de escolha (ODO; YONAMINE, 2000, 2004).

A desvantagem desta matriz em relação às outras é a maior possibilidade de adulterações ou substituição da amostra pelo usuário, diluição da amostra através da ingestão de quantidades elevadas de líquidos como água ou chás que aumentam a capacidade urinária ou mesmo pela adição de produtos químicos como amônia, hipoclorito de sódio e detergentes que dificultam a análise podendo gerar resultados falso-negativos (CHASIN; YONAMINE, 1990, 2000).

Em casos de intoxicação, a possibilidade de se estabelecer correlação entre os níveis sanguíneos da droga e o estado do paciente faz do sangue a amostra mais adequada para a caracterização laboratorial da intoxicação, sendo adequado nos casos de investigação de acidentes, assim como em sobredosagens (CHASIN ; YONAMINE, 1991, 2000).

Nessa matriz, a maior concentração da droga está em sua forma inalterada, e o exame possibilita verificar apenas o uso recente da substância (algumas horas), portanto não é uma matriz indicada para detectar o uso pregresso (ODO, 2000).

As técnicas de escolha são as imunológicas para a triagem e cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa para confirmação (YONAMINE, 2000).

A amostra de sangue é considerada complexa, devido aos seus constituintes normais que dificultam a análise, requerendo um método caro, invasivo, e pessoal treinado para a sua execução. Além disso, o resultado da análise costuma demorar mais que nos demais métodos (ODO; YONAMINE, 2000).

Uma possível alternativa ao sangue é a saliva, que tem sido objeto de inúmeras pesquisas em toxicologia nos últimos anos devido à sua fácil obtenção e caráter não-invasivo da coleta, podendo ser utilizada para a monitoração de uso recente da droga (YONAMINE, 2000).

Estudos mostram correlação entre os níveis encontrados na saliva e no plasma, e a porcentagem de 3 a 47% maior da droga inalterada na saliva aponta para a importância deste material como amostra biológica em estudos toxicocinéticos ou para o diagnóstico laboratorial da farmacodependência (CHASIN, 1990). Entretanto, os resultados devem ser interpretados com muito cuidado, pois a contaminação da saliva proveniente da administração da droga pelas vias oral e respiratória pode gerar proporções distorcidas de concentração saliva/plasma (CHASIN, 1991).

Esta amostra biológica pode ser coletada sob supervisão direta, dificultando a adulteração da mesma pelo doador, através de um tubo sob vácuo ou colocando um dispositivo de absorção na boca. Assim como no sangue, pesquisa-se a droga inalterada, porém utiliza-se diretamente a técnica confirmatória de cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa, devido ao pequeno volume de amostra possível de ser coletado (YONAMINE, 2000).

Os fatores limitantes para a análise toxicológica na saliva são a baixa concentração da droga e dos metabólitos na saliva e o pequeno volume possível de ser coletado (cerca de 1 a 3mL da amostra). Além disto, valores de referência não estão bem estabelecidos (MOREAU, 2003).

Atualmente, existe ainda um método não-invasivo que utiliza o suor para detecção do consumo da droga em até dez dias, com a utilização de um adesivo que deve permanecer fixado por no mínimo um dia, e no máximo, sete, dependendo do objetivo da coleta. Posteriormente realiza-se a extração e a identificação das substâncias presentes através de ensaio imunoenzimático ou radioensaio para triagem e cromatografia em fase gasosa associada à espectrometria de massa para confirmação. A presença ou não da cocaína é confirmada em aproximadamente uma hora (FOLLADOR, 2004).

No Brasil, o método ainda não é comum devido ao custo elevado, pois os adesivos são fabricados somente nos EUA. Além disso, atualmente pouco é conhecido sobre a disposição da droga no suor, não havendo con-

senso sobre o valor de referência para a detecção de cocaína o que, dificulta a interpretação dos resultados (FOLLADOR; YONAMINE, 2004). Nesta amostra biológica, a cocaína inalterada é encontrada em maior concentração do que os seus produtos de biotransformação, éster metil ecgonina e benzoilecgonina (FOLLADOR; ANTONIDES, 2004, 2007).

Segundo Follador (2004), o suor é uma amostra biológica útil na vigilância de indivíduos em tratamentos ambulatoriais para a dependência a drogas de abuso ou em liberdade condicional, permitindo que eles sejam monitorados em seu meio. Dessa forma, tudo aquilo que eles transpirem neste período é acumulado na almofada coletora do adesivo, que não pode ser fraudado, pois, uma vez retirado da pele, não pode ser recolocado e cada adesivo possui um número de série, inviabilizando a troca.

Além desta aplicação, pode ser utilizado em investigações forenses; e possibilita a obtenção de amostras na ausência de espécime biológico, por exemplo, por meio do suor impregnado em roupas de acusados ou vítimas, podendo fornecer evidências de uma possível exposição a drogas de abuso. Apesar disso, existe ampla discussão sobre a possibilidade de contaminação externa da amostra de suor e o risco de resultados falso-positivos (FOLLADOR; ANTONIDES, 2004, 2007).

Nos últimos anos, muitos estudos foram desenvolvidos com o propósito de aperfeiçoar métodos para a detecção da cocaína e de seus metabólitos em cabelo. O interesse no método é justificado pelas vantagens particulares que o cabelo apresenta, como amplo período de detecção do analito (alguns meses), estabilidade, coleta não invasiva da amostra e dispensa de condições especiais de transporte e armazenamento. Existe ainda a possibilidade de se obter uma segunda amostra, similar e correspondente à anteriormente coletada para a realização de uma posterior análise, se necessário (TOLEDO, 2003).

Levando em consideração que o cabelo humano cresce, em média, de 1,0 a 1,5 cm por mês, é possível traçar um histórico de consumo da cocaína. Por este motivo, existem relatos de que a amostra de cabelo seria preferível às análises de urina na verificação da farmacodependência, pois apresenta a possibilidade de detecção em usuários que tenham análise urinária negativa por um longo período de tempo, podendo prover informações relativas à severidade ou a padrões individuais de uso (CHASIN; TOLEDO, 1991, 2003).

A análise em cabelo é de grande utilidade na área forense, para verificar exposição em longo prazo, não apenas de recém-nascidos, mas também de usuários de drogas (YONAMINE, 2000).

Na literatura, os métodos utilizados para verificar o uso de cocaína analisando amostras de cabelo incluem

imunofluorescência polarizada, radioimunoensaio, eletroforese capilar e cromatografia líquida de alta eficiência em fase de triagem e espectrometria de massas acoplada à cromatografia em fase gasosa para técnica de confirmação (TOLEDO, 2003).

Devido a uma possibilidade de resultado falso-positivo ou falso-negativo por contaminação exógena, atualmente utilizam-se critérios como: adoção de procedimentos de descontaminação, emprego de concentrações de corte, avaliação da relação fármaco/metabólitos presentes e identificação dos metabólitos (NETO, 2002).

Contudo, a detecção de cocaína no cabelo só é possível se houver exposição frequente à droga. Além disso, ainda não pode ser considerada uma matriz estabelecida, pois o estabelecimento de sua eficácia, utilidade e credibilidade ainda carecem de estudos (NETO, 2002).

Em análises toxicológicas realizadas com tecidos provenientes de necropsia, em casos de sobredosagem, as concentrações mais elevadas de cocaína são encontradas na urina e nos rins, seguidas pelas concentrações no cérebro, sangue, fígado e bile (CHASIN, 1990).

O conteúdo estomacal também pode constituir amostra de análise pós-morte, uma vez que prevalece no estômago o fármaco na sua forma inalterada presente pela possível secreção gástrica da cocaína, que facilita substancialmente a análise (YONAMINE, 2000).

O humor vítreo está situado em um compartimento protegido da ação de microrganismos e, por isso, também, pode ser utilizado quando os corpos se encontrarem em estado de decomposição (YONAMINE, 2000).

Com relação à unha, ainda existem poucos estudos direcionados a avaliar sua utilização como matriz biológica para verificar exposição crônica à cocaína. Entretanto as unhas servem como alternativas para verificar casos de exposição prolongada, como em investigações forense pós-morte e também em recém-nascidos (CAMPOS, 2002).

A coleta é realizada com o simples corte da unha, sem procedimentos especializados, e o método analítico de escolha é a cromatografia gasosa associada espectrometria de massas devido à sua alta sensibilidade e a capacidade de separar os compostos (CAMPOS, 2002).

Um estudo realizado por CAMPOS (2002) mostra que a benzoilecgonina seguida de norcocaína e cocaína inalterada foram detectados nesta matriz.

Sua maior desvantagem se deve ao fato de sofrer contaminação externa devido à manipulação de drogas, sendo necessário um procedimento de descontaminação realizado anteriormente à análise, além disso, os valores de referência para esta amostra ainda não estão bem estabelecidos (CAMPOS, 2002).

Embora a análise toxicológica na unha ainda seja pouco utilizada, ela têm encontrado campo crescente nos

exames de admissão nas empresas, em especial nos casos de profissões de alto risco (CAMPOS, 2002).

Qualquer que seja a matriz biológica para a realização da análise, o acondicionamento e o armazenamento da mesma são fatores importantes a serem considerados na análise de cocaína, pois é bem conhecido o fato de ocorrer hidrólise química espontânea e enzimática in vivo e in vitro (CHASIN, 1991).

CONCLUSÕES

Através desta revisão, pode-se concluir que matrizes alternativas como saliva, suor, unha e cabelo, devem continuar em estudo para que a relação entre a disposição de substâncias, métodos analíticos utilizados e possíveis influências de contaminação externa sejam definidos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao laboratório de análises toxicológicas da Universidade de São Paulo, em especial ao professor Maurício Yonamine, além dos orientadores Marcelo Pires e Miriam Godoy.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTONIDES, H.; KIELY, E.; MARINETTI, L. Vitreous Fluid Quantification of Opiates, Cocaine, and Benzoylcegonine: Comparison of Calibration Curves in Both Blood and Vitreous Matrices with Corresponding Concentrations in Blood. **J. Analytical Toxicology**, v.31, n. 2, p.24-31, Oct. 2007.
- CAMPOS, S. V. **Avaliação da exposição à cocaína através da análise toxicológica em unha**. 2002. 121f. Dissertação. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- CHASIN, A. A. M. **Diagnóstico laboratorial da intoxicação aguda por cocaína: aspecto forense**. 1990. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1990.
- CHASIN, A. A. M.; MÍDIO, A. F. Revisão dos métodos analíticos para a identificação e quantificação de cocaína em material biológico. **Rev. Bras.Toxicologia**, v. 4. n. 1, p.23-29, 1991.
- FASSINA, V.; LINDEN, R. Análise toxicológica sistemática em toxicologia forense. **Rev. Bras.Toxicologia**, São Paulo, v. 16, n.1, p.48-50, 2003.
- FERREIRA, P. E.; MARTINI, R. K. **Cocaína: lendas, história e abuso**. **Rev.Bras. Psiquiatria Clínica, São Paulo**, v. 23, n. 2, p.32-43, 2001.

- FOLLADOR, M. J. D. **Avaliação do uso do suor como matriz biológica para verificar a exposição à cocaína associada ou não à ingestão de bebida alcoólica.** 2004. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- GOODMAN, L.; GILMAN, A. Anestésicos locais. In: CATERALL, W.; MACKIE, K. **As bases farmacológicas da terapêutica.** 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003, p. 279-291.
- MOREAU, R. L. M.; YONAMINE, M.; SALVIANO, A. M. Determinação de cocaína e cocaetileno em urina por microextração em fase sólida e espectrometria de massa associada à cromatografia gasosa.** *Rev. Bras. Toxicologia*, v. 16. n. 1, p. 134-142, 2003.
- NETO, F. R. A.; MARQUES, M. A. S.; PEREIRA, H. M. G. Controle da dopagem no esporte: aspectos químicos e farmacocinéticos que afetam a detecção de drogas no cabelo. *Rev. Bras. Ciênc. Farm.* v. 38, n. 3, p. 260-271, jul/set. 2002.
- ODO, S. A. **Avaliação da confiabilidade do relato de uso de cocaína em pacientes sob tratamento ambulatorial através da análise toxicológica da urina por imunofluorescência polarizada.** 1999. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- ODO, S. A.; ARAÚJO, A. C.; SANTOS, A. F. dos.; TOLEDO, F. C. P.; YONAMINE, M.; SILVA, O. A.; LEITE, M. C. Indicações e limites das análises toxicológicas para substâncias psicoativas. *Rev. Psiquiatria Clínica*, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 50-56, ago. 2000.
- OGA, S. Estimulantes do sistema nervoso central. In: CHASIN, A. A. M.; SILVA, E. S. **Fundamentos de toxicologia.** 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 240-256.
- ROMBERG, R.; JAMERSON, H.; KLETTE, K. Rapid analysis of Benzoilecgonine in Urine by Fast Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Analytical Toxicology*, v.30,n.1, p.15-21, 2006.
- ROSSI, S.; COLAMONICI, C.; BOTRÊ, F. Parallel analysis of stimulants in saliva and urine by gas chromatography/mass spectrometry: Perspectives for “in competition” anti-doping analysis. *Analytica Chimica Acta*,v.15,n.1, p.10-13, 2008.
- SIMÕES, C. M. C.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, R. P. Alcalóides tropânicos. In: BACCHI, E. M. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 4. ed. Porto Alegre: editora da Universidade do Rio Grande do Sul, 2002. p. 667-687.
- TOLEDO, F. C. P.; YONAMINE, M.; SILVA, O. A. **Determinação de cocaína, benzoilecgonina e cocaetileno em cabelo através de microextração em fase sólida e espectrometria de massa associada à cromatografia gasosa.** *Rev. Bras. Toxicologia, São Paulo*, v. 16. n. 1, p. 130-156, 2003.
- YONAMINE, M. **Derivação de benzoilecgonina urinária com diazometazano para verificação da exposição à cocaína por técnicas cromatográficas.** 2000. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
- YONAMINE, M. **A saliva como espécime biológico para monitorar o uso de álcool, anfetamina, metafetamina, cocaína e macoína por motorista profissionais.** 2004. 126f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.