

## Standardization of a Method for Analysis of Cocaine in Urine Samples using Solid-Phase Extraction (SPE) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

**Rodrigo A. Sarria Villa**  
Universidad del Cauca

**Víctor Campo Daza**  
Universidad del Cauca

**José A. Gallo Corredor**  
Universidad del Cauca

**Vilma Muñoz**  
Universidad del Cauca

Received: November 1, 2016

Accepted: March, 29, 2017

Pag. 81-89

### Abstract

The high costs of the consumption of pure cocaine, led to the production of cocaine base or bazuco (crack), a product of lower economic value, high demand and generally more used by consumers of low socioeconomic level. Bazuco is a white or brownish, semisolid or solid substance, whose active principle ingredient is cocaine. Cocaine is an alkaloid with a long history of use and abuse. Determination of both, in non-biological samples as well as in biological fluids remains a top priority task. In this work, the validation of the extraction method of cocaine in urine samples is reported, using the technique of *solid phase extraction* (SPE). Recovery rates between 99.4 and 99.8 % were obtained using SPE to cocaine. The technique was standardized using chromatographic column C8, an ultraviolet detector (254 nm), a mobile phase of acetonitrile-acetic acid-water (58-40-2) at a flow of 0.4 mL/min. The linearity range was between 0.01 ug/mL and 1.0 ug/mL. Three quantification curves were created: 10 – 20 ppb, 20-100 ppb and 100-1,000 ppb with determination coefficients  $r^2$  of 0.9965, 0.9947 and 0.9973 respectively. The method was applied to urine samples from a group of volunteers who consumed crack in the city of Popayán, Cauca, Colombia.

**Keywords:** Cocaine, High performance liquid chromatography, Phase solid extraction.

Doi: <http://dx.doi.org/10.25100/rc.v21i1.6350>

### Validación de un método para el análisis de cocaína en muestras de orina empleando extracción en fase sólida (SPE) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

#### Resumen

Los altos costos que implica el consumo de cocaína pura, llevó a la producción de base de cocaína o bazuco (crack), un producto de menor valor económico, gran demanda y generalmente más usado por consumidores de bajo nivel socioeconómico. El bazuco es una sustancia blanca, o pardusca, semisólida o sólida, cuyo principio activo es la cocaína. La cocaína es un alcaloide con una larga historia de uso y abuso. Su determinación, tanto en muestras no biológicas como en fluidos

biológicos continúa siendo una tarea de primer orden. En el presente trabajo se reporta la validación de un método de extracción de la cocaína en muestras de orina, usando la técnica de *extracción en fase sólida* (SPE). Porcentajes de recuperación entre el 99.4 y el 99.8 % fueron obtenidos para cocaína empleando SPE. La técnica cromatográfica fue estandarizada, empleando una columna C8, un detector ultravioleta (254 nm), una fase móvil de agua-acetonitrilo-ácido acético (58-40-2) a un flujo de 0.4 mL/min. El rango de linealidad estuvo entre 0.01 µg/mL y 1.0 µg/mL. Se crearon tres curvas de cuantificación: 10 – 20 ppb, 20 – 100 ppb y 100 – 1,000 ppb con coeficientes de determinación  $r^2$  de 0.9965, 0.9947 y 0.9973 respectivamente. El método fue aplicado en muestras de orina de un grupo de personas voluntarias que consumen bazuco en la ciudad de Popayán, Cauca, Colombia.

**Palabras clave:** cocaína, cromatografía líquida de alta resolución, extracción en fase sólida.

## 1 Introducción

La coca fue clasificada por Ludwig Lewin en 1924 y es quizás la más típica y antigua de las sustancias llamadas erróneamente “narcóticos” en América, cuando la denominación correcta sería la de estupefacientes por ser sustancias que actúan sobre el sistema nervioso central, creando hábitos y dependencia. Existen 16 especies americanas siendo la más importante la *Erytroxylon coca* Lamarck, variedades que Hartwich clasifica como: *Bolivianum* Burck, *Spruceanum* Burck, *Carhagenense*, *Novogranatense* y *Truxyllense* <sup>(1)</sup>. La cocaína es un alcaloide que se extrae por maceración de las hojas de la planta de la coca muy común en toda la región tropical de América del Sur. En la Figura 1 se presenta la estructura química de la cocaína.

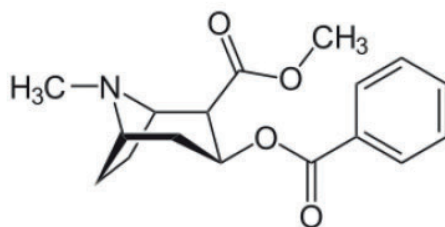


Figura 1. Estructura química de la cocaína

La frecuencia del uso de la cocaína se desconoce, pero su consumo ha aumentado considerablemente debido a grupos criminales que proveen constantemente el mercado ilegal con este tipo de sustancias <sup>(2)</sup>. Los altos costos que implica el consumo de cocaína pura, llevaron a la producción de “base de cocaína”, pasta de coca o bazuco, como generalmente se conoce en los medios de comunicación <sup>(3)</sup>. Según un estudio realizado por el ministerio de salud en el año 2013, se pudo observar que cerca de 49 mil personas son consumidores de esta sustancia en Colombia, de las cuales 45 mil son varones. El grupo de los consumidores de 25 a 34 años son quienes presentan un patrón de consumo más problemático debido a que casi la totalidad de los mismos son abusadores o dependientes <sup>(4)</sup>. Un estudio realizado en el departamento del Cauca mostró que la ciudad de Popayán presenta el más alto consumo de marihuana, cocaína y bazuco. En los municipios de Silvia, Santander de Quilichao, el Tambo y el Bordo, también se evidenció el consumo de este tipo de sustancias <sup>(5)</sup>. Aunque no se tiene un conocimiento pleno de los componentes de la mezcla utilizada con el nombre de bazuco, se sabe que la sustancia esencial es la llamada base o pasta de cocaína. Esta base de coca es mezclada con una diversidad de

sustancias que la hacen mucho más nociva: marihuana, acetona, amoníaco e incluso con solventes como gasolina y keroseno <sup>(3)</sup>. La cocaína es administrada en humanos por vía oral, intravenosa e intranasal. Ésta es rápidamente metabolizada y excretada en la orina. El principal metabolito es la benzoilecgonina (BE), considerado como marcador del consumo de cocaína, no obstante, se han reportado adicionalmente otros 18 metabolitos en orina, de los cuales los más importantes son la ecgoninametilester (EME), ecgonina (EG), norcocaína (NORCOC) y cocaetileno (COCET) <sup>(6, 7)</sup>. La orina representa una muestra idónea para realizar una gran variedad de ensayos preliminares en la determinación de tóxicos. Las mayores ventajas de esta muestra son que la concentración de un tóxico en este fluido puede llegar a ser 100 veces mayor que en la sangre y, además, la orina está exenta de proteínas por lo que las interferencias son mínimas. Una desventaja es que muchos tóxicos se eliminan prácticamente en su totalidad como metabolitos, que a veces son comunes a varias sustancias (benzodiazepinas, por ejemplo), porque en estos casos la identificación del tóxico requeriría el análisis de otro fluido o tejido. A pesar de todo, la orina sigue siendo la muestra de elección para la detección de drogas, ya que puede obtenerse fácilmente, en cantidades suficientes y, generalmente, contienen concentraciones detectables de tóxicos <sup>(8)</sup>. En esta investigación se realizó la validación de la técnica de (HPLC) para el análisis de cocaína en orina, optimizando un factor al tiempo en cuanto a fase móvil, fase estacionaria y longitud de onda, el tratamiento de la muestra y, evaluando el desempeño, validez y selectividad del método analítico escogido.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Equipos

Se empleó un equipo de cromatografía líquida Intralab. S.A, con detector UV modelo 5100, una columna empaquetada C<sub>8</sub> Octyl SGE de 5 µm de diámetro de partícula, 4 mm de diámetro interno y 25 cm de longitud. Las muestras fueron concentradas en cartuchos para extracción en fase sólida Supelco C<sub>18</sub> de 6.0 mL y se filtraron en filtros Hewlett Packard de 0.45 µm Fisher Scientific.

### 2.2 Reactivos y materiales

Se emplearon estándares de cocaína, sigma al 99.5 %, acetonitrilo 100 %, ácido acético glacial 99.7 %, diclorometano 99.7 %, isopropanol 99.8 % y metanol, mallinckrodt 99.9 %. Todos los reactivos fueron grado HPLC, J.T baker. Balanza analítica mettler AE200, con cinco cifras significativas, balones aforados de 10.0 mL y 25.0 mL, tipo A, filtros de membrana para solvente HPLC RC 55, 0.45 µm de poro, 47 mm de diámetro, jeringa Hewlett Packard de 25.0 µL, filtros para muestra Hewlett Packard de polipropileno de 0.45 µm de poro, 13 mm de diámetro.

### 2.3 Metodología analítica

#### *Preparación de soluciones*

Se preparó una solución estándar de referencia de 40 ppm de cocaína diluida en ácido sulfúrico y aforada con una mezcla de acetonitrilo - agua - ácido acético (40:58:2). A partir de esta solución, se realizaron las diluciones necesarias para el análisis cromatográfico.

### ***Determinación cromatográfica***

Se determinaron las condiciones cromatográficas óptimas teniendo en cuenta un factor a la vez en cuanto a velocidad de flujo variando la velocidad de flujo de la fase móvil desde 0.2 hasta 2.5 mL/min, longitud de onda (235, 254 y 275 nm) en el detector UV, fase móvil a diferentes proporciones (80-20 % de acetonitrilo) y tiempo muerto empleando soluciones de dicromato de potasio.

### ***Extracción de cocaína empleando SPE***

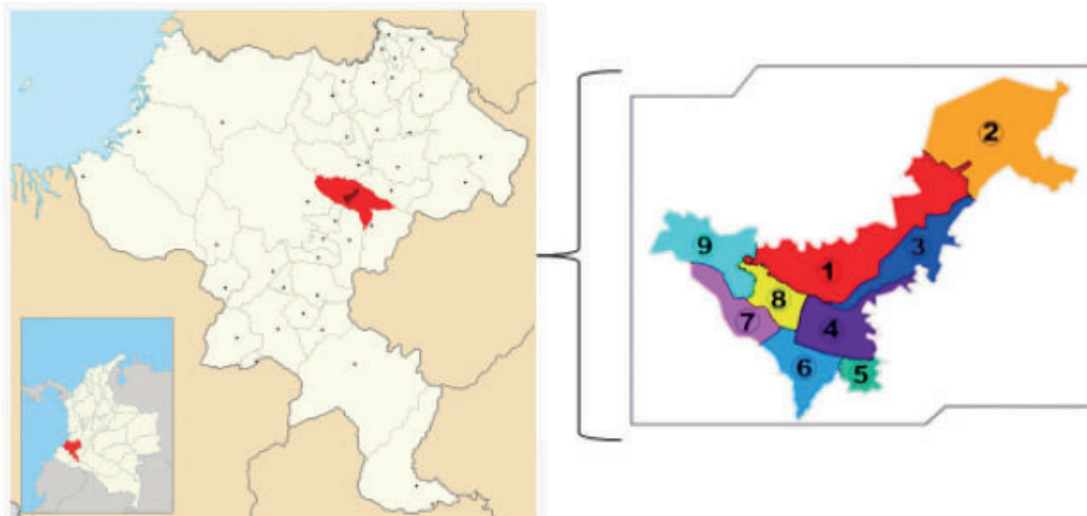
Para la implementación de la técnica de extracción de cocaína presente en orina se tomaron 12.0 mL de orina de personas no consumidoras de bazuco, se le adicionaron 5.0 mL de buffer de fosfato (pH 6) y 50 µL de una solución de cocaína de 20 ppb; se agitó y reposó por 15 minutos; se filtraron las muestras y se procedió a realizar la extracción y cuantificación. En el proceso de extracción, se utilizaron cartuchos C<sub>18</sub>, los cuales se acondicionaron agregando sucesivamente 3.0 mL de metanol, 3.0 mL de agua desionizada y 1.0 mL de buffer de fosfato (pH 6). Luego el cartucho fué cargado con 12.0 mL de la muestra y se aplicó vacío, con un goteo de 2 a 3 mL/min. Posteriormente se llevó a cabo el lavado de la columna con 1.0 mL buffer de fosfato (pH 6) – 2.0 mL agua desionizada – 2.0 mL ácido clorhídrico 0.1 N y 3.0 mL de metanol, se dejó secar el adsorbente por acción de vacío durante 10 min. El paso siguiente fue realizar la elución agregando 10.0 mL de una mezcla de diclorometano/isopropanol/acetonitrilo (80/20/100), siendo concentrado el extracto obtenido hasta sequedad con corriente de nitrógeno a 60° C. Finalmente se aforó a 500 µL con la fase móvil de trabajo (ACN - Agua – Ácido acético) para realizar el análisis cromatográfico.

## **2.4 Validación del método**

Para el método cromatográfico se evaluó linealidad, la precisión en cuanto a repetitividad y reproducibilidad. Se evaluó la exactitud teniendo en cuenta la recuperación del analito, dopando la matriz orina con concentraciones conocidas de cocaína y la sensibilidad fue evaluada en cuanto a límite de detección y cuantificación.

## **2.5 Toma de muestras reales**

Se realizó un muestreo con el fin de verificar la validez y aplicabilidad del método en muestras de orina (matriz real), de personas expuestas al consumo de bazuco. El muestreo se realizó de forma aleatoria en los barrios Los Sauces, Alfonso López y 31 de marzo, los cuales están ubicados dentro del municipio de Popayán, en las comunas 5, 6 y 7 respectivamente como se observa en la Figura 2.



**Figura 2.** Sitios de muestreo. Comunas del municipio de Popayán en el Departamento del Cauca, Colombia.

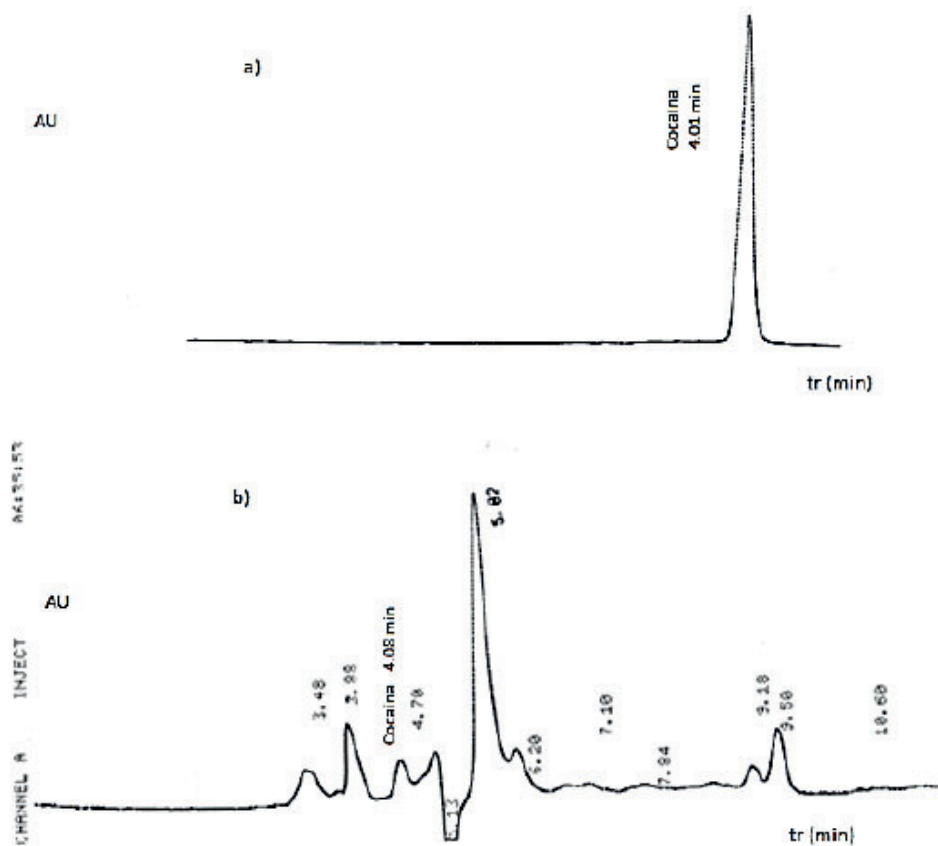
Se muestreó un grupo de 15 personas consumidoras de bazuco en la capital del departamento del Cauca, Popayán. Estas personas se encuentran repartidas en las zonas escogidas. La cantidad de orina recolectada a cada persona fue de 30 mL aproximadamente. Las muestras se recogieron en recipientes plásticos de 30 mL, especiales para muestras de orina; se tuvo en cuenta que los recipientes estuvieran perfectamente limpios, secos y que se pudieran cerrar herméticamente. Las muestras recolectadas fueron mantenidas a 4° C y fueron analizadas en un lapso de tiempo de 48 a 72 horas.

### 3 Resultados y discusión

#### 3.1 Estandarización de la técnica cromatográfica

Se ensayaron dos columnas para la mejor retención de cocaína, la SGE C<sub>8</sub> (Octyl) 250 x 4 mm ID y 5 µm de tamaño de partícula y la C<sub>10</sub> (Decyl) 250 x 4.6 mm ID y 5 µm de tamaño de partícula. La columna C<sub>8</sub> (Octyl), resultó ser efectiva para el análisis de cocaína debido a que presenta afinidad del compuesto con la fase de la columna, lo cual hace que la cocaína sea retenida de forma efectiva. La afinidad del compuesto con la fase móvil es debida a la presencia de grupos ester en la cocaína. Con la columna C<sub>10</sub> no se realizó una separación satisfactoria al no presentar buena resolución de los picos cromatográficos. Para seleccionar el flujo de la fase móvil adecuado, se realizó la curva de Van Deemter, donde se pudo observar que el flujo de trabajo se encuentra en 0.4 mL/min, donde la curva presenta la menor altura equivalente del plato teórico (0.014 cm), conduciendo así a un aumento del número de platos teóricos que es el ideal a la hora de determinar el flujo para la columna escogida (Octyl 250 x 4 mm ID y 5 µm de tamaño de partícula). Se pudo observar que a flujos menores, el análisis se hace más largo, lo cual no es eficiente, además que provoca ensanchamiento en las señales. Con el fin de obtener una buena intensidad de señal con el detector UV, se trabajó con tres longitudes de onda diferentes (235 - 254 y 275 nm), para poder así realizar una comparación de cada señal y seleccionar la longitud de onda apropiada en este detector para la determinación de cocaína. Para el

análisis de cocaína, a 254 nm, se pudo apreciar una señal grande y muy bien definida puesto que en rango de 200 a 280 nm presenta una banda de absorción representativa que no interfiere con la absorción de los solventes, que normalmente absorben cerca de los 200 nm. Además, con esta longitud de onda se obtuvieron bajos límites de detección y cuantificación de 0.08 ppb y 0.30 ppb respectivamente. Con la variación de la fase móvil (80 % - 20 % de acetonitrilo), se calculó el factor de capacidad ( $k$ ), que se define como la relación entre el tiempo de retención ( $t_R$ ) y el tiempo muerto ( $t_M$ ) y está relacionado con la velocidad de migración del analito en la columna. El tiempo muerto calculado con las soluciones de dicromato de potasio fue de 3.21 min. De acuerdo con el factor de capacidad, el mejor porcentaje de acetonitrilo para la elución isocrática para la cocaína es del 40 %, donde el factor de capacidad  $k$  es de 0.28. Valores de  $k$  entre 0.1 y 15 son aceptables con el fin de no alargar excesivamente los tiempos de separación. Para el análisis de cocaína se usó una columna SGE  $C_8$  (Octyl) 250 x 4 mm ID con 5  $\mu$ m de tamaño de partícula, con un volumen de inyección de 10  $\mu$ L, una mezcla de fase móvil ACN-agua-ácido acético (40:58:2), el flujo de la fase móvil fue de 0.4 mL/min y se usó una longitud de onda  $\lambda = 254$  nm para el detector UV. Bajo estas condiciones cromatográficas, se inyectó una muestra patrón de cocaína de 1.0 ppm, cuyo cromatograma se observa en la Figura 3a). En este cromatograma se puede apreciar la buena resolución del pico y un tiempo relativamente corto de análisis. En la Figura 3b), se puede observar el cromatograma del análisis de cocaína de una muestra de orina tomada en el sitio de muestreo número 2.



**Figura 3.** Cromatograma de la cocaína a las condiciones óptimas de trabajo (a), Cromatograma de muestra de orina del sitio de muestreo 2 (b)

### 3.2 Validación del método

Se realizaron tres curvas de calibración con rangos de concentración de 10 a 20 ppb ( $y=516.94x-3413.18$ ), de 20 a 100 ppb ( $y=1169.8x-18984$ ) y de 100 a 1,000 ppb ( $y=3040.2x-266999$ ) con coeficientes de determinación  $r^2$  de 0.9965, 0.9947 y 0.9973 respectivamente. Los coeficientes de determinación obtenidos (valores próximos a 1), demuestran la linealidad que presenta la cocaína dentro del rango de las concentraciones trabajadas. La respuesta lineal se ve representada con la respuesta del instrumento en el eje vertical (y) y la concentración estándar sobre el eje horizontal (x), donde el coeficiente de correlación cercano a 1 indica la relación lineal entre concentración y la señal del equipo. Se puede observar también el incremento de los valores de pendiente para las tres curvas construidas, indicando la sensibilidad del método y el ajuste al modelo lineal propuesto de una curva de calibración con inclinación hacia arriba. Las inyecciones en el cromatógrafo fueron hechas por triplicado, con el fin de validar el método. Para calcular el límite de detección, se utilizaron los datos de la curva de calibración que contiene los rangos de concentración más bajos; de 10 a 20 ppb de cocaína y cada punto se inyectó por triplicado. Con este rango de concentraciones, se realizó el cálculo de la mínima concentración detectada de cocaína, teniendo en cuenta la señal del blanco ( $Y_n$ ) y 3 veces la desviación estándar del blanco ( $S_n$ ) para límite de detección y 10 veces para el límite de cuantificación. El límite de detección para la cocaína fue de 0.09 ppb y el mínimo valor cuantificable fue de 0.295 ppb, lo cual indica una buena sensibilidad para determinar este compuesto. Para la evaluación de la precisión se obtuvieron valores de RSD entre 0.32 % a 4.5 %, de tal manera que el método cromatográfico es repetitivo dentro del rango de concentraciones examinado, ya que la desviación estándar relativa no sobrepasa el valor estipulado que es del 5 %, criterio de aceptación para el análisis de cocaína. Para determinar la reproducibilidad, se inyectaron por tres días consecutivos una sola vez por día, soluciones patrón de cocaína de 20, 500 y 1,000 ppb. Los resultados indicaron la buena reproducibilidad del método con desviaciones estándar relativas menores del 5 %. La exactitud se determinó evaluando la recuperación de concentraciones de cocaína en los rangos de 10 - 20; 20 - 100 y 100 - 1,000 ppb, las cuales se inyectaron por triplicado para obtener un porcentaje de recuperación promedio R. La t de student ( $t_{obt}$ ) se realizó con el fin de establecer la exactitud del método analítico. Para que la exactitud exista, es necesario que el  $t_{obt}$  sea menor que el  $t_{tabla}$ . Este último valor se tomó teniendo en cuenta un  $t_{tabla}$  de 2.31, n-1 grados de libertad y 95 % de confianza. En el proceso de extracción en fase sólida, las muestras de orina de individuos no adictos se doparon a tres (3) concentraciones diferentes de cocaína: 20, 500 y 1000 ppb, y luego de la extracción, cada concentración se inyectó en el cromatógrafo por triplicado. Se obtuvieron porcentajes de recuperación entre el 90 y el 100 %, con un valor promedio de 96.982 ( $t_{obt}=2.295 < t_{tabla}=2.31$ ), demostrándose así la relación del porcentaje de recuperación con la concentración que da la señal respecto a la cocaína extraída y comprobando la validez de la técnica de extracción.

### 3.3 Análisis cromatográfico de muestras de orina de consumidores de bazuco

Se realizó un muestreo aleatorio de orina en los barrios los Sauces, Alfonso López y Treinta y Uno de Marzo, ubicados en el municipio de Popayán. Las muestras se almacenaron en nevera a 4° C. Estas se filtraron con filtros de 0.45  $\mu$ m de poro para

eliminar impurezas. Seguidamente se realizó la SPE y la concentración de las muestras se realizó con corriente de nitrógeno. Con el fin de comprobar la efectividad de la técnica establecida, cada muestra se inyectó por triplicado en el cromatógrafo líquido. De las 15 muestras analizadas, solamente se encontró cocaína en 9 muestras. Los resultados obtenidos se reportaron en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Concentración de cocaína en muestras de orina.

SITIO DE MUESTREO	NOMBRE	CONCENTRACIÓN PROMEDIO ( $\mu\text{g/L}$ )
No.1	Los Sauces	0.521 $\pm$ 0.058
No.2	Alfonso López	0.397 $\pm$ 0.118
No.2	31 de Marzo	0.527 $\pm$ 0.172

El tiempo de retención del analito en estudio (cocaína) presente en las muestras no es significativamente diferente al del patrón que es de 4.01 min. La concentración de cocaína en las muestras analizadas directamente por interpolación en la curva, se encontraron en un rango de 16.3 ppb a 43.1 ppb. Haciendo la relación de dilución a 12 mL que fue la cantidad de muestra tomada, se encontró que la concentración real de cocaína en la orina está en un rango de 0.7 ppb a 1.8 ppb. La concentración máxima permitida de cocaína en ratas es de 17 mg/kg <sup>(9)</sup>.

#### 4 Conclusiones

La técnica HPLC con detección ultravioleta, nos permitió determinar con precisión y exactitud la cocaína presente en muestras de orina. El método cromatográfico permitió obtener picos cromatográficos bien resueltos, con límites de detección y cuantificación adecuados para la determinación de cocaína en la matriz de estudio. La técnica de extracción en fase sólida, utilizando cartuchos  $C_{18}$  como fase estacionaria, resultó ser una excelente técnica de separación, ya que los cartuchos utilizados retienen la cocaína de manera eficiente, lográndose así porcentajes de recuperación por encima del 95 %. En las muestras de orina analizadas, se encontraron concentraciones de cocaína por debajo del límite permisible establecido en ratas.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen al Departamento de Química y a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Cauca, Popayán, Cauca, Colombia por el apoyo brindado en la realización de este trabajo.



## Referencias bibliográficas

1. Cordoba D, Toledo D. Toxicología. Ed Medellín S.A.: Medellín; 1997: 313-324.
2. D'Avila FB, Ferreira PC, Salazar FR, Pereira AG, Santos MK, Pechamski F, *et al.* Analysis of cocaine/crack biomarkers in meconium by LC-MS. *J Chromatogr B.* 2016; 1012-1013: 113-117.
3. Torres SC. Intoxicación por pasta de cocaína (bazuco). Toxicología programada. Ed. Universidad Libre: Bogota;1984; 147-149.
4. Ministerio de Justicia y del Derecho - Observatorio de Drogas de Colombia y el Ministerio de Salud y Protección Social. Estudio nacional de consumo de sustancias psicoactivas en Colombia - 2013. ALVI Impresores S.A.S: Bogotá; 2014.
5. Ramírez Z. Toxicología programada. Ed. Universidad Libre: Bogota; 2010.
6. Ellerbe P, Tai SS-C, Christensen RG, Espinosa-Leniz R, Paule RC, Sander LC, *et al.* The certification of cocaine and benzoylecgonine in a human urine standard reference material. *J Anal Toxicol.* 1992; 16(3): 158-162. Doi: 10.1093/jat/16.3.158.
7. Silveira GdeO, Belitsky ÍT, Loddi S, Rodrigues de Oliveira CD, Zucoloto AD, Fruchtengarten LV, *et al.* Development of a method for the determination of cocaine, cocaethylene and norcocaine in human breast milk using liquid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Forensic Sci Internat.* 2016; 265: 22-28.
8. Vidal JC, Bertolín JR, Bonel L, Asturias L, Arcos-Martínez MJ, Castillo JR. Rapid determination of recent cocaine use with magnetic particles-based enzyme immunoassays in serum, saliva, and urine fluids. *J Pharmaceut Biomed Analysis.* 2016; 125:54-64. doi: 10.1016/j.jpba.2016.03.004.
9. Lachenmeier DW, Rehm J. Comparative risk assessment of alcohol, tobacco, cannabis and other illicit drugs using the margin of exposure approach. *Sci Rep.* 2015; 5: 8126.

## Dirección de los autores

Rodrigo A. Sarria Villa

Departamento de Química, Universidad del Cauca, Popayán - Colombia  
 rodrigov@unicauca.edu.co

Víctor Campo Daza

Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad del Cauca, Popayán - Colombia  
 vicamda@unicauca.edu.co

José A. Gallo Corredor

Departamento de Química, Universidad del Cauca, Popayán - Colombia  
 jagallo@unicauca.edu.co

Vilma Muñoz

Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad del Cauca, Popayán - Colombia  
 vilma2102@gmail.com