



**Universidad
Norbert Wiener**

FACULTAD FARMACIA Y BIOQUIMICA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**DETERMINACIÓN DE UNA TÉCNICA ANALÍTICA POR CROMATOGRFÍA EN
CAPA FINA PARA IDENTIFICACIÓN DE BARBITÚRICOS Y FENOTIAZINAS
EN MUESTRA BIOLÓGICA (ORINA).**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

Presentado por:

Br. CALLE LOPEZ, MARY CRUZ

Br. SUAREZ EGUSQUIZA, BEATRIZ MERY

Asesor:

Q. F. LOPEZ PARRA, RONAL

Lima - Perú

2019

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mis padres, ya que al creer en mis capacidades me brindaron el apoyo necesario para poder seguir en esta carrera, aun con muchas situaciones difíciles sus palabras de aliento nunca me dejaron caer.

A mi esposo que siempre me brindo cariño, amor y comprensión a lo largo de estos años.

A mis amigos que estuvieron apoyándome en las buenas y no tan buenas, con palabras de ánimo y hasta con una exhortación, ustedes también colaboraron a que este trabajo fuera una realidad y hoy se ve plasmado en esta tesis.

Br. Calle López, Mary Cruz

DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo amor y cariño a mis padres y hermanos por su sacrificio y esfuerzo, por darme una carrera para mi futuro y por creer en mi capacidad, aunque hemos pasados momentos difíciles siempre ha estado brindándome su comprensión, cariño y amor.

A mi esposo y preciosa hija Sofía por ser mi fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y así poder luchar y tener un futuro mejor.

A mis compañeros quienes sin esperar nada a cambio compartieron su conocimiento, alegrías y tristezas y a todas aquellas personas que durante estos cinco años estuvieron a mi lado apoyándome y lograron que este sueño se haga realidad.

Br. Suarez Egusquiza, Beatriz Mery

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento a la Universidad Norbert Wiener por habernos aceptado ser parte de ella y así poder estudiar esta carrera; también a los diferentes docentes que nos brindaron los conocimientos para seguir adelante día con día.

Agradezco también a mi Asesor de Tesis por haberme brindado la oportunidad de trabajar hombro a hombro con él y haberme ayudado con todos sus conocimientos, gracias por toda la paciencia del mundo para la realización de esta tesis.

Para terminar, agradecemos a nuestros amigos en el salón de clase ya que gracias a su amistad y apoyo han aportado en nosotras las ganas de seguir y ahora terminar nuestra carrera profesional.

Br. Calle Lopez, Mary Cruz

Br. Suarez Egusquiza, Beatriz Mery

INDICE GENERAL

| | |
|---|-----------|
| ÍNDICE GENERAL | iv |
| INDICE DE TABLAS | v |
| ÍNDICE DE FIGURAS | vi |
| RESUMEN | |
| ABSTRACT | |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| - Situación problemática | 1 |
| - Marco teórico referencial | 3 |
| - Estudios antecedentes | 10 |
| - Importancia y justificación de la investigación | 14 |
| - Objetivo del estudio | 15 |
| - Hipótesis de investigación | 15 |
| II. MATERIALES Y MÉTODOS | 16 |
| 2.1. Enfoque y diseño | 16 |
| 2.2. Población, muestra y muestreo | 16 |
| 2.3. Variable (s) de estudio | 17 |
| 2.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos | 20 |
| 2.5. Proceso de recolección de datos | 20 |
| 2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos | 20 |
| 2.5.2. Aplicación de instrumento (s) de recolección de datos | 21 |
| 2.6. Métodos de análisis estadístico | 21 |
| 2.7. Aspectos bioéticos | 21 |
| III. RESULTADOS | 22 |
| IV. DISCUSIÓN | 31 |
| 4.1. Discusión | 31 |
| 4.2. Conclusiones | 35 |
| 4.3. Recomendaciones | 36 |
| CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 37 |
| ANEXOS | 41 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Reactivos reveladores de identificación en ensayo para barbitúricos | 28 |
| Tabla 2. identificación de barbitúricos con fases móviles y reactivo revelador. | 29 |
| Tabla 3. Identificación de fenotiazinas con fases móviles y reactivo revelador. | 30 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Identificación de fenotiazinas | 45 |
| Figura 2. identificación de fenotiazinas. | 46 |
| figura 3. Identificación de fenotiazinas. | 47 |
| Figura 4. Identificación de fenotiazinas. | 48 |
| Figura 5. Identificación de barbituricos. | 49 |
| Figura 6. Identificación de sustancias. fase de revelado. | 50 |
| Figura 7. Ensayos de identificación. | 51 |
| Figura 8. Laboratorio de universidad norbert Wiener. | 52 |
| Figura 9. Metodo de siembra. | 53 |
| Figura 10. Preparación de fenotiazinas y barbituricos para estandar | 54 |

RESUMEN

El presente trabajo de investigación titulado “Determinación de una técnica analítica por cromatografía en capa fina para identificación de barbitúricos y fenotiazinas en muestra biológica (orina)”, tiene como objetivo determinar una técnica analítica por cromatografía en capa fina (CCF) para identificación de barbitúricos y fenotiazinas. La metodología empleada fue analítica, descriptiva y observacional, empleándose como muestra 30 fluidos biológicos de orina. Los resultados reportan que se logró identificar a la fenotiazina mediante los reactivos reveladores de Iodoplatinato y Dragendorff dando un color violeta-azul acentuándose el color al aspersarse ácido clorhídrico al 10%, lo que nos indica reacción positiva. Así mismo los reactivos reveladores formaldehído más ácido sulfúrico y el reactivo revelador de mercurio dieron resultado positivo a barbitúricos, mediante la aparición de un color blanquecino. **Conclusiones:** Se identificó una técnica analítica por cromatografía en capa fina para identificar fenotiazinas y barbitúricos en muestras biológica de orina.

Palabras claves: fenotiazinas, barbitúricos, cromatografía en capa fina, orina.

ABSTRACT

The present research work entitled Determination of an analytical technique by thin layer chromatography for identification of barbiturates and phenothiazines in biological sample (urine), aims to determine an analytical technique by thin layer chromatography (CCF) for identification of barbiturates and phenothiazines . The methodology used was analytical, descriptive and observational, using as a sample 30 biological urine fluids. The results report that it was possible to identify phenothiazine by means of the reagent reagents of Iodoplatinate and Dragendorff giving a violet-blue color, accentuating the color by sprinkling 10% hydrochloric acid, which indicates a positive reaction. Likewise, the formaldehyde plus sulfuric acid developer reagents and the mercury developer reagent gave a positive result to barbiturates, by the appearance of an off-white color. Conclusions: An analytical technique was identified by thin layer chromatography to identify phenothiazines and barbiturates in biological urine samples.

Keywords: phenothiazines, barbiturates, thin layer chromatography, urine.

I. INTRODUCCION

La cromatografía en capa fina, es un método que identifica las sustancias haciendo uso de fases móviles y reactivos reveladores, los cuales comparados a un estándar se identifican mediante la coloración y su factor de retención (Rf) respectivo, para ello es necesario preparar un estándar y un blanco para los análisis, siendo la orina una matriz importante en la identificación de sustancias, ya que la gran mayoría de sustancias se eliminan por esa vía, según el metabolismo de cada fármaco o tóxico.

En la actualidad, no se cuenta con muchos centros toxicológicos disponibles para la identificación de sustancias químicas, donde las técnicas de identificación tienen costos altos, por lo que nos vemos en la necesidad de desarrollar una técnica analítica sencilla, de bajo costo por cromatografía en capa fina, capaz de identificar las fenotiazinas y barbitúricos, sustancias comprometidas en diversas intoxicaciones, lo cual va a permitir iniciar un tratamiento sintomático, o identificar a las mismas sustancias cuando esten comprometidas en un hecho delictuoso.

Ello implica, que la identificación de una sustancia analítica por un método determinado tiene importancia en el campo analítico para el investigador, donde se debe trabajar con objetividad, y consultando las diversas bibliografías, por lo que deben realizarse ensayos continuos. Como consecuencia, se realizó el trabajo "Determinación de una técnica analítica por cromatografía en capa fina para identificación de barbitúricos y fenotiazinas en muestra biológica de orina".

- **Situación problemática**

Las drogas de abuso representan problemas de salud pública donde los profesionales de la salud son los encargados de resolver los diferentes problemas que puedan suscitarse a través por su consumo, los cuales pueden producir dependencia, efectos deletéreos, que puede llegar a la muerte ¹

Según el Ministerio de Salud (MINSA), D.S. N° 023-2001-SA, Reglamento sobre estupefacientes, psicotrópicos sujetas a fiscalización sanitaria, los medicamentos deben ser prescritos y dispensados bajo receta médica, por lo que el expendio de dichas sustancias debe ser monitoreado por el Químico Farmacéutico ²

Los fármacos psicotrópicos entre ellos barbitúricos y fenotiazinas son responsables de muchas intoxicaciones voluntarias e involuntarias, por lo que representan una casuística en la clínica diaria, de allí la necesidad de tener una técnica analítica rápida y confiable que detecte la presencia de estas sustancias en el organismo e iniciar un tratamiento seguro en la recuperación del paciente, la cual puede encontrarse en riesgo cuando no se toman las medidas correspondientes. Así mismo están ligados a diversos delitos, como robos, violación sexual, suicidios, por lo que es necesario cuando estén asociados a estos hechos, poder identificar en sangre u orina para establecer responsabilidades.

Castellanos C. (2014) ³ en su trabajo de investigación obtuvo como resultado que, el 72,7% de pacientes evaluados por delito sexual se encontraban bajo los efectos de drogas depresoras entre ellas las fenotiazinas dentro de las sustancias más empleadas.

El Centro de Información, Control Toxicológico y Apoyo a la Gestión Ambiental (CICOTOX), pertenece a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, es un laboratorio destinado a resolver problemas relacionados a la toxicología, y es centro de consulta y apoyo a los centros de salud y centros hospitalarios cuando se requiere principalmente identificar una sustancia asociada a una intoxicación como plaguicidas, cocaína, marihuana y otros.

A diferencia de los métodos colorimétricos, inmunoensayos y cromatografía en capa fina, existen otros métodos analíticos para identificar sustancias químicas en

fluidos biológicos, entre ellos el HPLC (cromatografía líquida de alta performance), la cromatografía gaseosa, GC-MS (Cromatografo de gases con espectrometría de masa) para ser usado en la búsqueda de drogas de abuso en fluidos corporales, en laboratorios clínicos y forenses.

Diversas sustancias son empleadas en delitos contra la libertad sexual, entre ellas, las benzodiazepinas, alcohol, ketamina, barbitúricos, neurolépticos, depresoras del sistema nervioso central, quienes al ser administrados lleva a la persona a un estado de somnolencia, letargia o estupor que afecte su nivel de conciencia y facilite la consumación de un hecho delictivo ³

- **Formulación del problema**

¿Es posible determinar una técnica analítica para identificar barbitúricos y fenotiazidas en muestra biológica de orina, a través de la cromatografía en capa fina?

- **Marco teorico referencial**

La cromatografía en capa fina permite identificar sustancias presentes en diferentes muestras biológicas, mediante la visualización de manchas, comparado a un estándar, haciendo uso de reactivos reveladores.

En la identificación de sustancias se emplean métodos y técnicas analíticas. El método consiste en proceso de investigación que se llevan a cabo para desarrollar una actividad, mientras que la técnica analítica son los procedimientos desarrollados para llegar a un resultado. En el caso de identificación de sustancias en el examen químico toxicológico la cromatografía de capa fina constituye un método, y el proceso de extracto seco, corrida de fases móviles, identificación de sustancias a través del reveladores, constituyen la técnica analítica.⁴

Para el desarrollo del trabajo de investigación se realizaron diferentes revisiones bibliográficas que permitieron enfocar el trabajo desde un punto de vista académico y científico, donde se identificaron métodos y técnicas analíticas de identificación de fenotiazinas y barbitúricos. Se diseñó un método de trabajo con procedimientos que incluyeron la designación del grupo poblacional, y las formas de identificar a las sustancias mediante técnicas analíticas.⁵

- **Cromatografía en capa fina**

En la actualidad, la cromatografía está conceptuada como un método empleado en la identificación de sustancias y en la separación de los componentes de un compuesto.

Éste método se emplea a nivel investigativo en la separación de compuestos, lo cual puede tener diferentes técnicas cuyo fundamento se basa en que tiene una fase móvil y otra estacionaria. La cromatografía de placa delgada como método analítico presenta mayor utilidad para definir la composición de una muestra, o sus componentes activos (analitos) que estuvieran en una muestra ⁶.

- **Barbitúricos**

Los barbitúricos son sustancias depresoras del sistema nervioso central, los cuales pueden ser clasificados de acuerdo al tiempo de vida media; entre ellos ultracorta, corta, intermedia y prolongada. Podemos citar principalmente al fenobarbital y pentobarbital.⁷

Pueden producir sedación, hipnosis, anestesia, además de tener propiedades anticonvulsivantes. Sin embargo, en la actualidad se emplea principalmente en el tratamiento de convulsiones y en anestesia. Puede estar involucrado en hechos de intoxicaciones voluntarias o involuntarias, ya sea suicida o accidental

respectivamente. De acuerdo a su vida media los barbitúricos tienen acción ultracorta, corta, intermedia y prolongada.⁸

Una dosis de 8 mg/Kg de peso de fenobarbital puede producir toxicidad de tipo aguda, de modo que una concentración de fenobarbital de 80 mcg/mL se encuentra asociado a una depresión del sistema nervioso central. Concentraciones sobre 30-40 mcg/mL pueden producir letargia y ataxia. Se puede producir muerte por ingestas de fenobarbital, usualmente se deben a complicaciones secundarias a la alteración del estado mental, como trauma o neumonía aspirativa ^{8,9}.

- **Mecanismo de acción de los barbitúricos**

No se conoce con exactitud el mecanismo de acción del fenobarbital, se ha postulado que actúa inhibiendo la transmisión monosináptica y polisináptica en el SNC. Tienen efecto depresor, se une al receptor GABA_A, facilitando la neurotransmisión inhibitoria ¹⁰.

- **Toxicocinética de los barbitúricos.**

Se administran principalmente por vía oral, tiene acción sedante e hipnótica, su absorción es rápida la cual varía entre 10 a 60 min. Se distribuyen en todo el organismo y atraviesa la barrera placentaria al tener propiedad liposoluble. También se administran por vía parenteral y/o endovenosa. Tiene metabolismo hepático. Su principal vía de eliminación es a nivel urinario, donde el 25% del fenobarbital se elimina por orina de forma inalterada, lo cual reduce su biodisponibilidad en el organismo ¹¹.

La detección analítica en un fluido biológico depende del tiempo de vida media de cada uno de ellos, los cuales puede detectarse en orina hasta 96 horas luego de su administración. El metabolismo está determinado por la acción de las enzimas hepáticas la cual

forma alcoholes, ácidos y cetonas, que aparecen como glucurónido a nivel urinario. La semivida de eliminación del pentobarbital se da entre 18 a 48 horas, lo cual puede variar en los individuos por diversos factores: peso, idiosincrasia, pacientes crónicos ^{11,12}.

- **Toxicodinamia de los barbitúricos**

Los barbitúricos incrementan o potencian la unión de GABA a los receptores GABA_A, por un mecanismo dependiente del cloro, así mismo potencia la corriente del cloro motivadas por el GABA y la apertura de los conductos. La actividad de los barbitúricos se da a nivel de la subunidad α y β . Las propiedades ansiolíticas de los barbitúricos son inferiores a las de las benzodiazepinas, pero presentan mayor inseguridad al tener mayor actividad depresora a nivel respiratorio, teniendo un menor índice terapéutico ¹³

- **Usos terapéuticos de los barbitúricos**

Los barbitúricos tienen actividad principalmente anticonvulsivante y anestésica principalmente el fenobarbital y pentobarbital; así mismo se emplean como efecto antagónico frente a la administración de la efedrina, teofilina con el objetivo de antagonizar los efectos del sistema nervioso central ¹³

- **Reacciones adversas por barbitúricos**

Puede presentarse depresión a nivel del sistema respiratorio, disartria, hipotermia, ataxia, mareos que puede llegar a coma. Los efectos de los barbitúricos se ven incrementados por la presencia del alcohol u otros fármacos con actividad depresora del sistema nervioso central, lo cual produce sinergismo de potenciación.

Son efectos secundarios: Somnolencia, letargia, estupor, coma, alteración de la conciencia, la capacidad de discernir y su actividad

psicomotriz. En algunos individuos se puede presentar clínica de embriaguez y excitación paradójica, además de producir excitación, delirio e inquietud ^{13,14}.

- **Interacciones medicamentosas de los barbitúricos**

Los barbitúricos pueden producir mayor depresión al asociarse con otros depresores del SNC, lo cual puede llegar a sedación profunda, donde se produce acción concomitante sobre todo con el alcohol y fármacos antihistamínicos. Inducción enzimática en el metabolismo de hormonas esteroideas, lo que afecta la actividad anticonceptiva para los fármacos destinados para tal fin y provocar embarazo ¹³.

- **Intoxicación por barbitúricos.**

La toxicidad puede llegar a coma, depresión del sistema respiratorio, colapso circulatorio, hipotensión arterial, hipoxia y depresión de la contractilidad cardíaca. atelectasia, edema, bronconeumonía e insuficiencia renal.

La eliminación de los barbitúricos puede incrementarse por la administración de fármacos diuréticos y la alcalinización de la orina. Es importante subsanar la hipovolemia y administrar dopaminas para corregir la presión arterial. Se produce incluso hipoxia y choque, así como la insuficiencia renal ¹³.

- **Fenotiazinas**

Denominado también neurolépticos, actúan principalmente por el bloqueo de los receptores dopaminérgicos cerebrales D₂, o también por la actividad sobre receptores de otros neurotransmisores para disminuir efectos como mareos y vómitos ¹⁵

Están formados por dos grupos: típicos, y atípicos, los cuales pueden producir efectos secundarios menores, los cuales son conocidos como síndromes extra piramidales. Entre ellos tenemos al haloperidol (típico) y a la clorpromazina (atípico) ¹²

- **Mecanismo de acción de las fenotiazinas**

Actúa bloqueando los receptores postsinápticos dopaminérgicos. La eficacia de los antipsicóticos más antiguos se correlaciona con su afinidad como antagonistas de los receptores D2 de dopamina. El bloqueo de estos receptores en el músculo estriado produce disfunción extrapiramidal. Los antipsicóticos más recientes tienen baja afinidad por los receptores D2 y alta afinidad por los receptores de serotonina 5-HT2A. La disfunción extrapiramidal se reduce y pueden revertirse los síntomas negativos de la esquizofrenia ¹⁰

- **Toxicocinética de las fenotiazinas**

Su administración es principalmente por vía digestiva, además de las vías intramuscular o endovenosa. Tienen metabolismo hepático. Tienen alto volumen de distribución y unión proteica. Atraviesan la barrera placentaria y puede presentar depresión del sistema nervioso central (SNC) en neonatos, así como síndrome extra piramidal, donde los síntomas disminuyen al suspenderse el fármaco ^{16,17}.

La concentración máxima se produce entre 1 y 6 horas por vía oral, pero puede ir de 30 a 60 minutos cuando se administra por vía parenteral. Se metabolizan mediante reacciones oxidativas en el sistema del citocromo P450, presentan conjugación con ácido glucurónico y sulfato.

La vida media es prolongada y presentan eliminación por vía biliar y renal. La clorpromazina y los otros llamados antipsicóticos de primera

generación son eficaces en el tratamiento de los síntomas positivos de la psicosis (delirios, alucinaciones y trastornos del pensamiento) ¹⁸

- **Toxico dinámica de las fenotiazinas**

Producen bloqueo de los receptores dopaminérgicos a nivel del SNC, principalmente en receptores D2, tanto los pre sinápticos como los pos sinápticos en diferentes vías dopaminérgicas. Presentan bloqueo de receptores α 1-adrenérgicos, serotoninérgicos (5-HT1A y 5-HT2A), histaminérgicos (H1), colinérgicos muscarínicos (M1), GABA_A, bloqueo de canales de sodio y de potasio. El efecto antipsicótico se refiere a la eficacia sobre los síntomas positivos y la potencia antipsicótica se relaciona con el bloqueo de receptores D2 ¹⁹

- **Usos terapéuticos de las fenotiazinas**

Tiene uso en esquizofrenia, enfermedades maniaco depresivas, trastornos neurológicos no psicóticos y como antieméticos, trastornos de ansiedad, enfermedad de Huntington y autismo ²⁰.

- **Reacciones adversas de fenotiazinas**

Distonías agudas y discinesias tardías (efectos extrapiramidales) los cuales presentan mayor efecto en los fármacos típicos que atípicos. Todos estos efectos se presentan como consecuencia del bloqueo del receptor D2. Distonía aguda: inquietud, espasmos musculares, protrusión de la lengua, desviación de la mirada hacia arriba, tortícolis, Parkinson ²⁰.

El síndrome neuroléptico maligno (SNM) es la complicación más grave asociada al uso de antipsicóticos. Los casos debidos a neurolépticos atípicos son mucho menos frecuentes y tienen menor mortalidad que los relacionados con neurolépticos típicos ²⁰.

También se presenta discinesia, el cual consiste en movimientos involuntarios, generalmente a nivel de la cara y de la lengua, pero también pueden presentarse en otras zonas como son el tronco y las extremidades, que en ocasiones resultan gravemente discapacitantes. También se presenta el síndrome antipsicótico maligno, además de rigidez muscular asociado a hipertermia y confusión mental en los pacientes ²⁰.

- **Intoxicación por fenotiazinas**

Alteración del estado de consciencia, coma, agitación, confusión, convulsiones y extrapiramidalismo (temblores, rigidez muscular, trismus, opistótonos e hipertermia). Otros síntomas refieren taquicardia, arritmia, hipotensión, aumento de la prolongación del intervalo PR, el segmento QRS, depresión del segmento ST. Edema pulmonar, depresión respiratoria, riesgo de bronca aspiración, por reflejo de náuseas ²⁰

- **Muestra biológica (orina)**

Es una muestra idónea para screening de tóxicos; se coloca en un envase de plástico estéril recogiendo 50 mL en promedio para la investigación analítica. Conservar la muestra en promedio a 4 °C. Las sustancias una vez ingresadas al organismo, se eliminan principalmente por vía urinaria.

- **Estudios Antecedentes.**

- ✓ **Antecedentes Internacionales.**

Castellanos C., Colombia (2014). Sustancias facilitadoras de asalto sexual en víctimas no fatales en Bogotá, Colombia. **Objetivo** determinar: las sustancias implicadas en delitos sexuales en víctimas. Bogotá. **Metodología:** todo delito sexual denunciado en un lapso de 72 horas luego del hecho,

sospechándose que la víctima se encuentre bajo los efectos de una droga que altere nivel de conciencia y posteriormente sea violada. Estudio de tipo descriptivo, transversal. **Resultados:** Se evaluaron 53 asaltos sexuales en el periodo junio 2013 - marzo 2014, donde el 92,5% fueron de género femenino. El 72,7% se encontraban bajo los efectos del alcohol y otras sustancias, siendo el alcohol, benzodicepinas y fenotiazinas las más empleadas. **Conclusiones:** La casuística de casos asociados a alcohol y drogas determina desarrollar estrategias a fin de prevenir futuros hechos sexuales, donde los casos pueden tener mayor estadística, que no se conocen por las personas que no denuncian los hechos ⁴

Valenzuela G., México (2013). Propuesta de una metodología para detección de drogas de abuso en muestras de orina, en el laboratorio de análisis clínicos del centro de investigación en ciencias médicas (CICMED). **Objetivo:** Plantear un método analítico para determinación de drogas en muestra biológica de orina en el centro de investigación CICMED. **Metodología:** Investigación de tipo analítica, transversal, no experimental. **Resultados:** el método propuesto permitió determinar la presencia o ausencia de una droga en los individuos, donde ninguno de las muestras analizadas reportó positivo para el análisis de drogas de abuso. **Conclusiones:** La metodología consignada como método investigativo presenta eficacia en los resultados sobre detección de drogas en muestras de orina ²⁰.

Moncayo W., Nicaragua (2013). Determinación de benzodicepinas en muestras de orina, mediante el método de cromatografía en capa fina que ingresan de las diferentes casas asistenciales de salud de la provincia de Chimborazo al laboratorio de Química Forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo, junio- noviembre 2012. **Objetivo:** determinar la presencia de benzodicepinas en muestras de orina, mediante el método de cromatografía en capa fina. **Metodología:** investigación descriptiva, explicativa, diseño experimental. **Resultados:** se

llegó a identificar metabolitos benzodiazepínicos mediante la técnica analítica de extracción líquido – líquido. **Conclusión:** se determinó la presencia del analito de benzodiazepina en muestra biológica de orina por CCF ²¹.

Unodc, Nueva York (2007). “Métodos recomendados para la detección y ensayos de benzodiazepinas y barbitúricos en especímenes biológicos”. **Objetivo:** analizar los fluidos biológicos para determinar la presencia o ausencia de una droga. **Metodología:** descriptivo, transversal. La identificación facilita el diagnóstico y tratamiento, para conocer el tipo de intoxicación o tipo de droga. **Resultados:** el resultado positivo obtenido no llega necesariamente a instancias judiciales, pero es útil como indicador para una terapia médica. **Conclusiones:** La estrategia determina la identificación de una sustancia, el cual debe confirmarse bajo otra metodología ²².

Pomilio W., Argentina (2006), en “Técnicas para determinación cuali/cuantitativa de drogas de abuso en fluidos biológicos”. **Objetivo:** determinar una técnica analítica de identificación de drogas de abuso en muestras biológicas. **Metodología** empleada fue descriptiva, analítica, empleándose fluidos biológicos para el análisis. **Resultados:** se determinaron cuali y cuantitativamente en forma simultánea drogas de abuso (opiatos, cocaína o anfetaminas) y drogas de prescripción médica (antidepresivos tricíclicos, fenotiazinas, benzodiazepinas, etc.) en sangre, orina, bilis y contenido gástrico. **Conclusiones:** los fluidos biológicos pueden contener diferentes sustancias, por lo que es necesario realizar un pretratamiento, toda vez que, la identificación de drogas de abuso en fluidos biológicos es solicitada en investigación farmacocinética, requerimiento de supradosis, o evaluación de determinación de concentración ²³.

✓ Antecedentes Nacionales

Parco G, Rodriguez J. Huancayo (2018). Determinación de falsos positivos en la identificación de benzodiazepinas en muestras biológicas mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF). **Objetivo** Determinar falsos positivos en la identificación de benzodiazepinas en muestras biológicas. **Metodología:** estudio de tipo básico, descriptivo, transversal. **Resultados.** La doxiciclina de 100 mg y el SMT/TMP de 800 mg/160 mg reportaron resultados negativos. El Metamizol 500 mg, celecoxib 200 mg, ibuprofeno 800 mg, metronidazol 500 mg y presentan como resultado falso positivo, al ser revelados empleando el reactivo de Dragendorff por el método de CCF. **Conclusiones:** se logró en los diferentes ensayos determinar sustancias que reportaron falso positivos para las benzodiazepinas ²⁴.

Jiménez L, Rodriguez Y. Lima (2017). Determinación de una técnica selectiva por cromatografía en capa fina para identificación de Benzodiazepinas. Diciembre 2017. **Objetivo:** Determinar una técnica selectiva por Cromatografía en Capa Fina para identificar Benzodiazepinas. **Metodología:** descriptiva, analítica, transversal. Se emplearon 26 muestras de orina de personas con ingesta previa del fármaco, siendo el lugar de análisis el laboratorio de toxicología de la Universidad Norbert Wiener y de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Resultado:** se logró determinar una técnica selectiva que dio positivo para benzodiazepinas, fenobarbital y fenitoína, sin embargo, es recomendable confirmar los análisis mediante el GC-MS (cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masa). **Conclusiones:** El método de cromatografía en capa fina, es un método que puede detectar benzodiazepinas, mostrando selectividad, exceptuando la especificidad ²⁵.

Quicaña D. Sotelo L. Lima (2005). Determinación analítica de GHB (Gamma hidroxibutirato) en fluidos biológicos por Cromatografía líquida de

alta performance (HPLC) y cromatografía en capa delgada (CCF). El **objetivo** trazado fue llegar a determinar una técnica analítica de identificación de GHB en fluidos biológicos. **Metodología:** es de tipo analítica, descriptiva y observacional. Se buscó identificar GHB por CCF, se aplicaron diversos solventes en las fases móviles y reactivos de identificación. **Resultados:** se aplicó la metodología analítica en orinas de personas que fueron llevadas a la DIRCRI para un examen toxicológico. **Conclusiones:** Se determinó la presencia del GHB por CCF y HPLC lo cual facilitará a los laboratorios de instituciones como la Policía y el Ministerio Público mejorar su labor al tener la certeza de su identificación en líquidos biológicos y vísceras ²⁶.

- **Importancia y justificación de la investigación**

El presente trabajo de investigación reviste importancia porque a través del desarrollo del mismo se identificará una técnica selectiva que permita identificar de forma práctica y sencilla barbitúricos y fenotiazinas en muestra biológica de orina, los cuales podrán ser empleados en la parte clínica como forense, ya que la ingesta de éstas puede estar asociadas a intoxicaciones agudas, suicidios, robos o delitos contra la libertad sexual.

Se realiza una búsqueda de información en diferentes bibliografías, guías, manuales, web, sobre la identificación de los barbitúricos y fenotiazinas, ello contribuirá con los centros asistenciales a un tratamiento asistencial rápido y oportuno, o facilitar alguna decisión judicial. La técnica analítica identificada para evaluación de fenotiazinas y barbitúricos es selectiva, práctica, bajo costo, y fácil de realizar por lo que será de utilidad a los centros asistenciales y legales.

- **Objetivos del estudio**

✓ **Objetivo General**

Determinar una técnica analítica por cromatografía en capa fina para identificación de barbitúricos y fenotiazinas en muestra biológica de orina.

✓ **Objetivos específicos**

Determinar una técnica analítica por capa fina para identificación de barbitúricos y fenotiazinas en muestra biológica de orina.

Seleccionar las técnicas analíticas con mejor performance analítico en la identificación de barbitúricos y fenotiazinas en muestra biológica de orina.

- **Hipótesis de investigación**

✓ **Hipótesis alterna H_1 :**

Existe una técnica analítica por Cromatografía en Capa Fina para identificar fenotiazinas y barbitúricos en muestra biológica de orina.

✓ **Hipótesis nula o H_0 :**

No existe una técnica analítica por Cromatografía en Capa Fina para identificar fenotiazinas y barbitúricos en muestra biológica de orina.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño

Estudio basado en la investigación analítica, descriptiva; transversal ^{27,28}

2.2 Población, muestra y muestreo

La población fue constituida por muestras biológicas de orina (prueba confirmatoria) de personas con ingesta previa de fenotiazinas y barbitúricos, y que no estuvieron administrándose otros medicamentos.

El análisis se realizó con 30 muestras positivas de personas que aceptaron ser parte de la investigación y firmaron el consentimiento informado, que se encontraban con tratamiento de fenotiazinas y barbituricos.

El muestreo es de tipo no probabilístico intencional, donde se eligió a los pacientes representativos de la población de referencia.

✓ **Criterios de inclusión**

Muestras de orina de personas que aceptan ser parte de la investigación desarrollada.

Personas con administración previa de fenotiazinas y barbituricos

Personas que firman el formato de consentimiento informado.

✓ **Criterios de exclusión.**

Personas que estén consumiendo otros tipos de medicamentos.

Personas que no acepten firmar el acta de consentimiento.

2.3 Variables de estudio

✓ Variable Independiente

Muestra biológica de orina.

○ Definición conceptual y operacional

La muestra de orina, es una muestra biológica, en la cual se pueden analizar diferentes sustancias químicas para determinar la ausencia o presencia de ella. Se puede realizar un análisis cualitativo o cuantitativo, bajo una determinada técnica analítica. La muestra de orina fue precedida de la administración de una fenotiazina o barbitúrico, con la intención de identificar la sustancia en el ensayo analítico.

La recolección de la muestra se inicia con la adquisición de frascos estériles, donde se colecta la orina en una cantidad de 50 a 100 mL de pacientes con ingesta de barbitúricos y fenotiazinas con tratamiento médico, las cuales una vez colectadas son conservadas y transportadas a temperatura entre 2° a 8° C a través de un cooler, con la finalidad de evitar la descomposición orgánica.

✓ Variable dependiente

Identificación de barbitúricos y fenotiazinas.

○ Definición conceptual y operacional

Los barbitúricos son grupos de fármacos depresores del sistema nervioso central, que puede incluso tener comportamiento anestésico. Las fenotiazinas son fármacos que actúan a nivel del sistema nervioso central, con actividad antipsicótica, utilizado en casos de trastornos mentales.

Las sustancias fenotiazinas y barbitúricos fueron identificadas mediante técnicas analíticas de cromatografía en capa fina mediante la visualización

de manchas comparada a un estándar y su Rf respectivo menor a 1.

- **Técnica operativa. Cromatografía en capa fina (CCF)**

La cromatografía en capa fina (CCF) es un método analítico rápido y sencillo, que permite determinar e identificar a una sustancia mediante la comparación de manchas entre la muestra problema y un estándar. Cuando dos muestras corren a la misma distancia en una placa cromatográfica se estima que se trata de la misma sustancia.

Para el desarrollo del método de CCF se realizó la obtención del extracto seco a partir de la muestra problema, los cuales se acidificaron con ácido clorhídrico al 10%, colocándolas luego en baño maría. Se filtraron las muestras (orina), colocándose en la pera de decantación para realizar la fase de extracción. Se emplea éter para la separación de fases y el paso de los analitos desde la fase acuosa a la fase etérea, debiéndose agitar la pera de decantación, y luego dejarla en reposo por 15 - 20 minutos para la correcta separación de fases ^{29,30}

Se obtuvieron fracciones ácida (barbitúricos) y fracción alcalina (fenotiazinas), considerando que los barbitúricos son solubles en diversos disolventes orgánicos entre ellos, el cloroformo, el éter etílico, el acetato etílico y metanol, pero son inmiscibles con el agua. A la fase acuosa recuperada se le agregó hidróxido de amonio para llevarla de la fase ácida a la alcalina, con un pH aproximado de 8.

Se reciben en un vaso de precipitado la fase acuosa y se recoge en un frasco vial la fase etérea (orgánica), para luego repetir el ensayo alcalinizando la fase acuosa para la obtención de la fase alcalina, previamente habiéndose puesto en contacto con hidróxido de amonio para llegar a un pH de 8-8.5. Una vez obtenida las fases ácida y alcalina se dejan evaporar a temperatura ambiente, para luego iniciar el método de siembra en las cromatoplasmas ^{29,30}

Se emplearon estándares preparados a partir de una sustancia pura (fenotiazinas)

y barbitúricos) obteniendo el extracto seco (ácido y alcalino) a fin de comparar con las muestras problemas, ensayándose un control positivo, un blanco que era el mismo diluyente y la muestra problema (orina) para fines de identificación. Se emplearon placas cromatográficas de aluminio y de vidrio para los ensayos, colocándolas previamente en la estufa por espacio de 15 minutos para su activación.

Se procedió a la dilución de los extractos ácidos y básicos, homogenizándolos para hacer mayor contacto con las superficies internas del frasco vial y asegurar la recuperación del analito. Luego se procedió al sembrado de estándares y muestras problemas aproximadamente a un cm de la base inferior de la placa empleando capilares (1 a 2 uL) además de un disolvente (blanco). Las placas fueron colocadas en las cubas 15 min después de incorporar previamente la fase móvil, a fin de saturar la cámara.

Se ensayaron diversas fases móviles en diferentes proporciones con los solventes orgánicos entre ellos metanol, acetona, cloroformo, etanol, benceno, acetato de etilo entre otros, para luego emplear reactivos reveladores como Iodoplatinato, dragendorff, formaldehído, mercurio, permanganato de potasio, entre otros. Una vez que recorrieron aproximadamente un 75 a 80% de la altura de la placa (10x20 cm y 6.5x2.5 cm) se dejó secar a temperatura ambiente para luego ser revelados con reactivos reveladores. Se evaluaron los R_f respectivos para identificar a los analitos conjuntamente con la aparición de manchas. Para la identificación de barbitúricos y fenotiazinas, ambos son colocados en la luz UV a 254 nm.

- **R_f. (factor de retención)**

El valor de R_f viene dado por la siguiente expresión:

$$R_f = L_1 / L_2$$

L₁: distancia recorrida por la muestra desde el punto de aplicación hasta el frente del solvente.

L2: distancia del frente del solvente.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos (validez y confiabilidad de instrumentos)

El empleo de material bibliográfico determina la recopilación de información para los ensayos de identificación de los barbitúricos y fenotiazinas, la cual se apoyó en guías, manuales, textos y otros, así como el intercambio académico entre estudiantes. Luego la información y ensayos fueron consignados en fichas de recolección de datos para un mejor ordenamiento (Anexo B)

2.5 Proceso de recolección de datos

Los datos o resultados son consignados en fichas de recolección para ser analizadas las respuestas. Se compararon recorridos de los analitos para identificación. Los resultados se interpretan mediante la observación visual, método comparativo y la visualización de manchas.

Se identificó al paciente que se administraba barbitúricos y/o fenotiazinas, se realizó la recolección de orina, realizándose luego la fase de extracción (ácido y alcalino), seguido del método de siembra del analito mediante un capilar. Luego siguió la fase de corrida en una fase móvil y posteriormente la fase de identificación mediante mediante la aplicación de reactivos reveladores.

- **Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos.**

Se realizaron coordinaciones con el asesor del proyecto, y con el laboratorio de la universidad con la finalidad de cumplir con el cronograma establecido y poder llevar a cabo la realización de los ensayos analíticos. Se le indicó a los pacientes el objetivo del trabajo, los mismos que decidieron voluntariamente ser parte de la investigación, donde previamente se les hizo saber que no implicaba riesgo alguno, cuyos resultados serían ampleados de forma exclusivamente con fines académicos.

- **Aplicación de instrumentos de recolección de datos.**

El instrumento de recolección de datos fue diseñado para una adecuada recolección de los datos referidos a muestra biológica de orina y tipo de medicamento ingerido.

Luego fueron consignados el tipo de ensayo analítico, la fase móvil empleada y el reactivo revelador empleado para la identificación de la fenotiazina y el barbitúrico con el resultado obtenido.

2.6 Método de análisis estadístico

Se empleó el programa Excel, toda vez que el trabajo de investigación tenía como objetivo la determinación de un ensayo analítico para identificar fenotiazinas y barbitúricos, y no tratarse de un trabajo de correlación. Se construyeron tablas.

2.7 Aspectos bioéticos

Para la investigación fue considerado el aspecto ético de parte de los investigadores donde las personas fueron informadas acerca del trabajo de investigación, admitiendo su participación mediante la firma del consentimiento informado. Los resultados y ensayos son de uso exclusivo para fines de investigación.

III. RESULTADOS

Se lograron identificar a los barbitúricos y fenotiazinas en las muestras obtenidas, que muestran selectividad, pero no especificidad.

Previo a la identificación de barbituricos y fenotiazinas, se realizaron ensayos con anterioridad con diversos medicamentos como paracetamol, cafeína, ácido acético salicílico, ibuprofeno para determinar la selectividad y especificidad de las técnicas analíticas en la identificación de ambos medicamentos donde no se reporta especificidad.

Se utilizaron muestras tanto de varones como mujeres entre las edades de 18 años siendo el rango mínimo, y el rango máximo fue de 50 años.

Para los **BARBITÚRICOS**.

- a. La fase móvil metanol/acetona (1:1) al ponerse en contacto con el reactivo revelador de rojo de metilo, no dio ninguna coloración, dando resultado NEGATIVO, al no identificarse al barbitúrico.
- b. La fase móvil metanol/acetona (4:1) empleada conjuntamente con el reactivo revelador permanganato de potasio al 1%, reporta resultado NEGATIVO, al no apreciarse color comparado al estándar que permita identificar al barbitúrico.
- c. Empleándose la fase móvil metanol/acetona a proporciones de (4:1) y haciendo uso del reactivo revelador de cloruro férrico al 10%, se reporta resultado NEGATIVO, al no visualizarse ninguna coloración frente al revelado, por lo que no se llegó a identificar al barbitúrico.
- d. La fase móvil metanol/acetona a proporciones 1:1 con reactivo revelador de Iodoplatinato, reportó resultado NEGATIVO al no observarse la aparición de

ninguna mancha en la placa, por lo que no se llega a identificar al barbitúrico.

- e. La fase móvil acetato de etilo/metanol/amoniaco a proporciones 0.85:0.1:0.05, al emplearse el reactivo revelador de Iodoplatinato, no permite visualizar ninguna mancha en la placa similar al estándar, por lo que da resultado NEGATIVO.
- f. La fase móvil metanol/acetona/trietanolamina (1:1:0.02) empleando el reactivo revelador de Dragendorff, no aportó evidencias sobre la aparición de color tanto en los estándares como en la muestra problema, lo cual da resultado NEGATIVO, por lo que no se llega a identificar al barbitúrico.
- g. La fase móvil cloroformo/acetona (4:1), empleándose reactivo revelador de formaldehído más ácido sulfúrico, permite visualizar al barbitúrico con una mancha blanquecina al llegar a humectarse a profundidad la placa cromatográfica, al igual que el estándar, lo cual reporta resultado POSITIVO.
- h. La fase móvil benceno/etanol a proporciones de 4:1 con reactivo revelador de mercúrico-difenilcarbazona reporta resultado POSITIVO, identificándose al barbitúrico, dando un color blanquecino al humectarse la placa cromatográfica.
- i. La fase móvil metanol/acetona (1:1) con el reactivo revelador mercurio, reporta mancha blanquecina al igual que el estándar, por lo que se considera resultado POSITIVO para identificación de Barbitúricos.
- j. La fase móvil metanol/acetona con proporciones 1:1, y empleando el reactivo revelador de formaldehído más ácido sulfúrico, reporta resultado POSITIVO, identificándose al barbitúrico, dando un color blanquecino al humectarse la placa cromatográfica.

- k. La fase móvil metanol/acetona a proporciones 1:1 con el reactivo permanganato de potasio, no logra identificar al barbitúrico, por lo su resultado es NEGATIVO, al no visualizarse ningún color que identifique al barbitúrico.
- l. La fase móvil metanol/acetona/trietanolamina (1:1:0,02) con el empleo de reactivo revelador permanganato de potasio, indica resultado NEGATIVO, no llegándose a identificar al barbitúrico.
- m. La fase móvil metanol/acetona/trietanolamina a proporciones 1:1:0,02 con reactivo Iodoplatinato al no observarse ninguna coloración en la placa reporta resultado NEGATIVO, no llegándose a identificase al barbitúrico.
- n. La fase móvil metanol/acetona (1:1) con reactivo revelador de cloruro férrico, reporta resultado NEGATIVO, por lo que no se llega a identificar al barbitúrico.
- o. La fase móvil acetato de etilo/metanol/amoniaco a proporciones 0.85:1.0:0.5 empleándose luego el reactivo revelador de cloruro de mercurio, reporta POSITIVO, al identificarse al barbitúrico mediante la aparición de manchas blanquecinas.
- p. La fase móvil cloroformo/acetona (4:1) y empleando el reactivo revelador de alcohol diazotado, no se visualiza ninguna mancha dando resultado NEGATIVO, al no identificarse al barbitúrico.
- q. El empleo de la fase móvil metanol/acetona (1:1), conjuntamente con el reactivo revelador tiocianato de cobalto, reportó NEGATIVO para barbitúricos.
- r. La fase móvil cloroformo/metanol a proporciones de 9:1 y con reactivo revelador de permanganato de potasio al 1%, da un resultado NEGATIVO, no

se llega a identificar al barbitúrico al no visualizarse alguna coloración.

Para las **FENOTIAZINAS**.

- a. La fase móvil metanol/acetona (1:1) y el empleo del reactivo revelador rojo de metilo, no se visualiza alguna coloración, lo cual se reporta como NEGATIVO al no llegarse a identificar a la fenotiazina.
- b. En la fase móvil metanol/acetona (4:1) y con el uso del reactivo revelador permanganato de potasio al 1%, no se evidenció la visualización de mancha, lo que indica resultado NEGATIVO, al no llegarse a identificar a la fenotiazina como muestra control ni en las muestras problemas.
- c. La fase móvil metanol/acetona a proporciones 4:1 con el empleo del reactivo revelador cloruro férrico al 10%, reporta resultado NEGATIVO al no observarse la aparición de alguna coloración que indique presencia de la fenotiazina.
- d. La fase móvil metanol/acetona a proporciones 1:1 con reactivo revelador de Iodoplatinato, da resultado POSITIVO, con color violeta-azul identificándose a la fenotiazina dando un color violeta-azul acentuándose el color al aspersarse ácido clorhídrico al 10%.
- e. La fase móvil acetato de etilo/metanol/amoniaco a proporciones 0.85:0.1:0.5 con reactivo revelador de Iodoplatinato, da resultado POSITIVO, identificándose a la fenotiazina dando un color violeta-azul acentuándose el color al aspersarse ácido clorhídrico al 10%. El reactivo Iodoplatinato muestra gran selectividad para las fenotiazinas.

- f. La fase móvil metanol/acetona/trietanolamina a proporciones de 1:1:0.02 mediante el empleo del reactivo revelador de dragendorff, da como resultado POSITIVO, identificándose a la fenotiazina dando un color anaranjado. El color que aparece en la placa se va intensificar al aspersarse con ácido clorhídrico al 10%.
- g. La fase móvil cloroformo/acetona con proporciones de 4:1 con el empleo del reactivo revelador de formaldehído más ácido sulfúrico, indica resultado NEGATIVO, al no observarse la aparición de alguna coloración en el estándar y muestra problema, por lo que no se llega identificar a la fenotiazina.
- h. La fase móvil benceno/etanol a proporciones de 4:1, y mediante el empleo del reactivo revelador de mercurico-difenilcarbazona, indica resultado NEGATIVO, al no llegarse a observar coloración en la placa por lo que no se llega identificar a la fenotiazina.
- i. La fase móvil metanol/acetona (1:1) con el reactivo revelador mercurio, reporta resultado NEGATIVO para identificación de Fenotiazinas, al no apreciarse visualización de manchas similar al estándar.
- j. La fase móvil metanol/acetona a proporciones 1:1 con reactivo revelador de formaldehído más ácido sulfúrico, reporta resultado NEGATIVO al no llegarse a observar alguna coloración en la placa, lo cual identifica a la fenotiazina.
- k. fase móvil metanol/acetona a proporciones 1:1 mediante el empleo del reactivo permanganato de potasio al 1%, no se logra observar coloración en la placa, por lo que se reporta resultado NEGATIVO para fenotiazina.
- l. La fase móvil metanol/acetona/trietanolamina a proporciones de 1:1:0,02 con reactivo permanganato de potasio al 1%, dando resultado NEGATIVO al no

observarse coloración que indique la presencia de la fenotiazina.

- m. La fase móvil metanol/acetona/trietanolamina 1:1:0,02 con reactivo Iodoplatinato da resultado POSITIVO, identificándose a la fenotiazina con un color violeta-azul acentuándose el color al aspersarse ácido clorhídrico al 10%.
- n. El empleo de la fase móvil metanol/acetona a proporciones de 1:1 con reactivo revelador de cloruro férrico, da resultado NEGATIVO al no observarse coloración o pigmentación en la placa, no llegándose a identificar a la fenotiazina.
- o. La fase móvil acetato de etilo/metanol/amoniaco a proporciones de 0.85:0.1:0.5 con reactivo revelador de cloruro de mercurio, dando resultado NEGATIVO, al no observarse coloración al pulverizarse el reactivo, por lo que no se llega a identificar a la fenotiazina.
- p. La fase móvil cloroformo/acetona a proporciones de 4:1 con reactivo revelador de alcohol diazotado, reporta resultado POSITIVO, identificándose a la fenotiazina al visualizarse un color violeta-azul observando el color con mayor intensidad al aspersarse ácido clorhídrico al 10%.
- q. El empleo de la fase móvil metanol/acetona (1:1), conjuntamente con el reactivo revelador tiocianato de cobalto, reportó POSITIVO.
- r. La fase móvil cloroformo/metanol a proporciones de 9:1 y con reactivo revelador de permanganato de potasio al 1%, da un resultado NEGATIVO, no se llega a identificar a la fenotiazina al no aparecer coloración en la placa tanto en el estándar como en las muestras problemas de orina, extraídas en los pacientes voluntarios.

TABLA 1. REACTIVOS REVELADORES DE IDENTIFICACIÓN EN ENSAYO PARA BARBITURICOS

| N° ENSAYO | FASES MOVILES | PROPORCION | REACTIVO | BARBITURICO | FENOTIAZINA |
|-----------|----------------------------|-----------------|---------------------------|-------------|-------------|
| 1 | METANOL /ACETONA | (1:1) | ROJO DE METILO | NEGATIVO | NEGATIVO |
| 2 | METANOL /ACETONA | (4:1) | PERMANGANATO DE K | NEGATIVO | NEGATIVO |
| 3 | METANOL /ACETONA | (4:1) | CLORURO FERRICO | NEGATIVO | NEGATIVO |
| 4 | METANOL /ACETONA | (1:1) | IODOPLATINATO | NEGATIVO | POSITIVO |
| 5 | AC. ETILO/METANOL/AMONIACO | (0.85:0.1:0.05) | IODOPLATINATO | NEGATIVO | POSITIVO |
| 6 | METANOL/ACETONA/TEA | (1:1:0.02) | DRAGENDORFF | NEGATIVO | POSITIVO |
| 7 | CLOROFORMO/ACETONA | (4:1) | FORMALDEHIDO/AC.SULFURIC | POSITIVO | NEGATIVO |
| 8 | BENCENO/ETANOL | (4:1) | MERCURIO | POSITIVO | NEGATIVO |
| 9 | METANOL /ACETONA | (1:1) | MERCURIO | POSITIVO | NEGATIVO |
| 10 | METANOL /ACETONA | (1:1) | FORMALDEHIDO/AC. SULFURIC | POSITIVO | NEGATIVO |
| 11 | METANOL /ACETONA | (1:1) | PERMANGANATO DE K | NEGATIVO | NEGATIVO |
| 12 | METANOL/ACETONA/TEA | (1:1:0.02) | PERMANGANATO DE K | NEGATIVO | NEGATIVO |
| 13 | METANOL/ACETONA/TEA | (1:1:0.02) | IODOPLATINATO | NEGATIVO | POSITIVO |
| 14 | METANOL /ACETONA | (1:1) | CLORURO FERRICO | NEGATIVO | NEGATIVO |
| 15 | AC. ETILO/METANOL/AMONIACO | (0.85:0.1:0.05) | MERCURIO | POSITIVO | NEGATIVO |
| 16 | CLOROFORMO/ACETONA | (4:1) | ALCOHOL DIAZOTADO | NEGATIVO | POSITIVO |
| 17 | METANOL /ACETONA | (1:1) | TIOCIANATO DE COBALTO | NEGATIVO | POSITIVO |
| 18 | CLOROFORMO/METANOL | (9:1) | PERMANGANATO DE K | NEGATIVO | NEGATIVO |

En la tabla 1 se observan los resultados sobre identificación de barbitúricos y fenotiazinas. Los reactivos mercurio y formaldehído mas ácido sulfúrico reportan POSITIVO para barbitúricos. Los reactivos Dragendorff, Iodoplatinato y alcohol diazotado reporta POSITIVO para fenotiazinas.

TABLA 02. IDENTIFICACION DE BARBITÚRICOS CON FASES MÓVILES Y REACTIVO REVELADOR

| N° ENSAYO | FASES MOVILES | PROPORCION | REACTIVO | BARBITURICO |
|------------------|----------------------------|-------------------|-------------------------------|--------------------|
| 1 | CLOROFORMO/ACETONA | (4:1) | FORMALDEHIDO/AC. SULFURICO | POSITIVO |
| 2 | BENCENO/ETANOL | (4:1) | CLORURO DE MERCURIO | POSITIVO |
| 3 | METANOL /ACETONA | (1:1) | CLORURO DE MERCURIO | POSITIVO |
| 4 | METANOL /ACETONA | (1:1) | FORMALDEHIDO/AC.SULF. | POSITIVO |
| 5 | AC. ETILO/METANOL/AMONIAAC | (0.85:0.1:0.05) | CLORURO DE MERCURIO | POSITIVO |

En la tabla 2, sobre identificación de barbitúricos, se describen las diferentes fases móviles empleadas durante los ensayos analíticos a diferentes proporciones. Se indica fases móviles, proporciones, reactivos reveladores y resultado POSITIVO.

TABLA 3. IDENTIFICACIÓN DE FENOTIAZINAS CON FASES MÓVILES Y REACTIVO REVELADOR

| N° ENSAYO | FASES MOVILES | PROPORCION | REACTIVO | FENOTIAZINA |
|------------------|---------------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|
| 1 | METANOL /ACETONA | (1:1) | ODOPLATINATO | POSITIVO |
| 2 | AC. ETILO/METANOL/AMONACO | (0.85:0.1:0.05) | ODOPLATINATO | POSITIVO |
| 3 | METANOL/ACETONA/TEA | (1:1:0.02) | DRAGENDORFF | POSITIVO |
| 4 | METANOL/ACETONA/TEA | (1:1:0.02) | ODOPLATINATO | POSITIVO |
| 5 | CLOROFORMO/ACETONA | (4:1) | ALCOHOL DIAZOTADO | POSITIVO |
| 6 | METANOL /ACETONA | (1:1) | TIOCIANATO DE COBALTO | POSITIVO |

En la tabla 3, sobre identificación de fenotiazinas, se describen las diferentes fases móviles empleadas durante los ensayos analíticos a diferentes proporciones. Se indica fases móviles, proporciones, reactivos reveladores y resultado POSITIVO.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión

Según los procedimientos analíticos ensayados sobre identificación de barbitúricos y fenotiazinas estos pueden identificarse usando de forma adecuada la fase móvil ideal, con su respectivo reactivo revelador, mediante la aparición de coloraciones entre las muestras problemas y el reactivo revelador. Las fenotiazinas reportan manchas azuladas o marrón rojizo, mientras que los barbitúricos reportan manchas blanquecinas cuando reaccionan con el reactivo revelador, al ser aspersadas en las placas cromatográficas.

Para el caso de las FENOTIAZINAS los reactivos reveladores que dan positivo son el Iodoplatinato, Dragendorff, y el alcohol diazotado en fases móviles diferentes, los cuales reconocen grupos funcionales en su identificación; los resultados mostraron selectividad no llegando a ser específicos. Ello representó limitaciones en el trabajo, por lo que uno de los objetivos específicos determinaba el hallazgo de una técnica específica. La cromatografía en capa fina representa un método de separación e identificación, y que mediante sus técnicas analíticas sus reactivos reveladores identifican grupos funcionales, por lo que no llegan a ser específicos. El Rf es un factor fundamental y la visualización de manchas para identificar la sustancia investigada. Otro reactivo revelador que dio positivo en la identificación de fenotiazinas es el tiocianato de cobalto, con el inconveniente que este reactivo identifica una gran mayoría de sustancias pigmentándolas de color azul, por lo que no logra obtener selectividad ni especificidad.

Respecto a los ensayos de los BARBITURICOS, se confirmaron de manera más selectiva que los reactivos como el formaldehído más el ácido sulfúrico y el cloruro de mercurio permitieron su identificación confirmándose los diversos protocolos sobre identificación de barbitúricos.

Las fases móviles empleadas para la identificación de fenotiazinas y barbitúricos de acuerdo a la polaridad de cada uno de ellos permitieron una mejor identificación con

una mejor corrida en las fases móviles. Las fenotiazinas fueron identificadas principalmente con reactivo de Iodoplatinato y dragendorff, mientras que los barbitúricos mediante el empleo de formaldehído más ácido sulfúrico y el empleo de cloruro de mercurio. Se hicieron previo a los ensayos finales diversos ensayos preliminares con fases móviles y reactivos reveladores diversos, para llegar a optimizar la identificación de las sustancias.

Las fases cloroformo/acetona, metanol/acetona/trietanolamina, metanol/acetona fueron principalmente las que mostraron mayor polaridad, y permitieron a través del empleo de reactivos su identificación, por lo que consideramos que son las fases con mejores resultados.

Comparado a otros trabajos similares Quicaña E, et al (2005). “Determinación analítica de GHB (Gamma hidroxibutirato) en fluidos biológicos por Cromatografía líquida de alta performance (HPLC) y cromatografía en capa delgada (CCF)” en éste se determinó la presencia del GHB por CCF y HPLC, en el trabajo logró identificar sustancias relacionadas al abuso sexual, delitos y otros. Éste nos orientó en la selección de las técnicas empleadas para la identificación de sustancias en cromatografía en capa fina del cual tomamos la metodología para la realización de las pruebas preliminares. Nuestro trabajo logró identificar barbitúricos y fenotiazinas, si bien fueron selectivas y no específicas estas técnicas pueden ser empleadas en cualquier establecimiento de salud desde el tipo I hasta el tipo III, por ser rápidos de realizar, sencillos, de bajo costo y ser ecoamigables (generan mínima toxicidad), con la excepción del benceno y cloroformo que es altamente tóxico.

Dentro de los reactivos empleados en la fase móvil, se utilizaron muchos solventes peligrosos como: el benceno, cloroformo, trietanolamina y mas (salvo que el ensayo analítico sea necesario su empleo), estos solventes son conocidos por su alta toxicidad y que además producen contaminación y otros efectos nocivos para la salud, es por ello que se describen todas las técnicas realizadas en este trabajo

donde una de las recomendadas es la de metanol/acetona, por ser solventes que resultaron tener mucha polaridad usados en la fase móvil y que si recomendamos su uso es porque contribuirá a la protección del sistema ambiental y la protección del organismo por ser de menor toxicidad que los reactivos antes mencionados.

Según Castellanos en “Sustancias facilitadoras de asalto sexual en víctimas no fatales en Bogotá, Colombia” tuvo como objetivo identificar sustancias implicadas en delitos sexuales tales como benzodiazepinas y fenotiazinas donde realizaron identificación de fenobarbital mediante la técnica analítica cromatografía en capa fina, la misma que fue utilizada por nosotros para la identificación de barbitúricos, donde se obtuvieron resultados positivos.

Es importante en los casos de intoxicación voluntaria e involuntaria manejar los antecedentes y relacionar a la clínica con la toxicidad, a los antipsicóticos como la Clorpromazina, levopromazina, haloperidol que producen generalmente en el individuo manifestaciones de tipo extra piramidal, hipotensión, arritmias entre otros, los cuales pueden poner en riesgo la vida humana.

El clínico o toxicólogo debe ser capaz de conocer la sintomatología clínica para revertir dichos eventos mediante el uso de sustancias antidóticas como la fisostigmina. Desde el punto de vista fármaco y toxico cinético, las concentraciones de los fármacos en la orina son diversas y pueden variar en función a factores de eliminación como volumen del agua excretada, creatinina y el tiempo transcurrido desde la última ingesta de fármaco (dosis). El metabolismo varía de una persona a otra y depende mucho de la capacidad enzimática, dosis, idiosincrasia, entre otros.

Los barbitúricos como fenobarbital y pentobarbital, y las fenotiazinas como clorpromazina y levopromazina forman metabolitos diversos en el proceso de biotransformación de las drogas con actividad farmacológica y toxicológica los cuales pueden ser detectados en orina. Es importante considerar que el intervalo en

el que se puede detectar un fármaco en la orina es variable. Hay varios factores que inciden en el intervalo de detección, considerando principalmente a la dosis de la droga, la administración aguda frente a la administración crónica y la administración frente a otras sustancias, los cuales pueden aumentar o disminuir el metabolismo de las drogas. El método analítico empleado, las diferencias metabólicas y de excreción, así como el pH de la orina.

El trabajo realizado pudo establecer criterios de identificación sobre sustancias analíticas mediante la cromatografía en capa fina, el cual empleando reveladores y reactivos puede contribuir con la sociedad aportando resultados que serán de mucha utilidad al igual que otras entidades, lo que en un determinado momento se puede coger una población mayor para los ensayos respectivos, o realizarlos con técnicas analíticas de mayor sensibilidad. por ello se realizó el trabajo determinación de una técnica analítica para identificación de barbitúricos y fenotiazinas en muestras biológica de orina con resultados y aportes óptimos.

4.2 Conclusiones

- Se logró determinar una técnica analítica para identificación de barbitúricos y fenotiazinas mediante el método de cromatografía en capa fina en muestras biológica de orina. Siendo una técnica rápida, sencilla y de bajo costo que puede implementarse en cualquier centro asistencial que ayudaran a la identificación de estas sustancias con la implementación necesaria.
- Las técnicas analíticas de mejor performance en la identificación de barbitúricos y fenotiazinas son cloroformo/acetona, metanol/acetona/trietanolamina, metanol/acetona son las que mostraron mejor resultado cualitativo, considerando que son las fases con mejores resultados además de que los solventes usados son los menos toxicos.
- Mediante el método de cromatografía en capa fina y las técnicas analíticas empleadas se logró identificar barbitúricos y fenotiazinas las cuales mostraron selectividad, pero no se logró especificidad.

4.3 Recomendaciones

- Implementar y aplicar el uso de las técnicas analíticas descritas en el trabajo en los centros de salud y hospitales de Lima y provincias, para que puedan resolver problemas al momento de identificar sustancias tóxicas.
- La cromatografía en capa fina es un método recomendable en la identificación de sustancias, las técnicas que se emplean son de fácil aplicación, rápidas y económicas, la aplicación de estas técnicas serían un gran aporte en centros asistenciales cuando se tenga que identificar sustancias y la vida de las personas se vea comprometida.
- Implementar la técnica de cromatografía en capa fina en los establecimientos de salud sobre las técnicas analíticas de identificación que serán de gran utilidad en el diagnóstico de intoxicaciones.

CITAS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Valenzuela G., Mejía C. Propuesta de una metodología para detección de drogas de abuso en muestras de orina, en el laboratorio de análisis clínicos del centro de investigación en ciencias médicas (CICMED). México 2013 [Para optar el título de Químico Farmacéutico Biólogo]. México: Facultad de Química, Universidad Autónoma de México; 2013. Disponible en:
<file:///C:/Users/Hp/Downloads/Documents/407977.pdf>
2. Ministerio de Salud. Decreto Supremo N° 023-2001-SA-Reglamento de Estupefacientes Psicotrópicos Sujetas a Fiscalización Sanitaria. Disponible en:
https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/283858/255646_DS023-2001.pdf20190110-18386-1k7n0nb.pdf
3. Castellanos C. “Sustancias facilitadoras de asalto sexual en víctimas no fatales en Bogotá, Colombia”. [Para optar el grado de magister en Toxicología]. Colombia: Facultad de Medicina, Departamento de Toxicología, Universidad Nacional de Colombia; 2014.
Disponible en: <http://bdigital.unal.edu.co/46566/1/599332.2014.pdf>
4. United States Pharmacopoeia Convention. USP XXII. United States Pharmacopoeia. 22 ed. Easton: Mark Printing; 1990:1225,1710.
5. Ramírez C. et al. Validación del método analítico para la determinación de mercurio total en sangre humana por espectrofotometría de absorción atómica. Revista Colombiana de Química [Internet]. 2014;43(3):11-16. Recuperado de:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309042140002>
6. Lorenzo, M. *et al.* Detección por cromatografía en capa delgada (CCF) de metabolitos antifúngicos producidos por *Pseudomonas aeruginosa* cepa PSS. ICIDDA. Sobre los derivados de la caña de azúcar [internet]. 2006: XL (1):27-30.
7. Córdoba D. Toxicología. Manual Moderno; 2000
8. Á. Mediavilla J. Flórez, J. A. Armijo. Farmacología humana. Masson; 2004
9. Pierre A. Manual de farmacología Básica y Clínica. Mc Graw Hill.6 ed. México 2013

10. Katzung Bertram G. "Farmacología básica y clínica". Novena Edición. Manual Moderno. 2005.
11. Rang y Dale. Farmacología. 6° Edición. 2008. Elsevier.
12. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica, Mac Graw Hill. 11° edición. 2011
13. Hurlle MA, Montí J, Flores J. Fármacos ansiolíticos y sedantes. Farmacología de los trastornos del sueño. En: Flores J. Farmacología humana, 6 ed. Madrid: Elsevier Masson; 2014.
14. Barahona T. Síndrome Neuroléptico Maligno: un diagnóstico de exclusión. Etiologías, características y mecanismos patogénicos. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. BUN Synapsis Vol.3 No.2 enero - abril 2011
15. Ramón R, *et al.* Intoxicaciones por neurolépticos. Pediatría Atención Primaria [Internet]. 2006; VIII (31):63-76. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/art+iculo.oa?id=366638692007>
16. Bazán S, Pérez J. Chamacon: exposiciones potencialmente letales en pediatría. Acta Pediatr Mex. 2016 jul;37(4):228-240.
17. Melina F. et al. Antipsicóticos de primera y segunda generación en esquizofrenia: eficacia, efectividad y efecto de la dosis utilizada. ARS MEDICA Revista de Ciencias Médicas (internet). 2017. Volumen 42 número 1 año. Disponible en:
[file:///C:/Users/Hp/Downloads/452-Documento%20principal%20\(texto\)-2257-2-10-20170523.pdf](file:///C:/Users/Hp/Downloads/452-Documento%20principal%20(texto)-2257-2-10-20170523.pdf)
18. Lopez M. Tratamientos farmacológicos de la esquizofrenia. Ciencia e investigación - tomo 67 N° 3 – 2017
19. Merejildo E. Síndrome neuroléptico maligno por risperidona. Rev Exp. Med (Internet). 2016. 2(2). Disponible en:
<http://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/45>
20. Valenzuela G. Propuesta de una metodología para detección de drogas de abuso en muestras de orina, en el laboratorio de análisis clínicos del centro de investigación en ciencias médicas (CICMED). [Para optar el título de Químico Farmacéutico]. Mexico: Universidad Autónoma del estado de México; 2013.

Disponible en:

<http://ri.uaemex.mx/oca/bitstream/20.500.11799/14378/1/407977.pdf>

21. Moncayo Wilson. Determinación de benzodiazepinas en muestras de orina, mediante el método de cromatografía en capa fina que ingresan de las diferentes casas asistenciales de salud de la provincia de Chimborazo al laboratorio de Química Forense del departamento de criminalística de la policía judicial de Chimborazo durante el período junio- noviembre del 2012. [Para optar la especialidad laboratorio clínico e histopatológico]. Ecuador: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo;2013. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/1186/1/UNACH-EC-LAB.CLIN-2013-0040..pdf>
22. Métodos recomendados para la detección y ensayo de barbitúricos y benzodiazepinas en especímenes biológicos". UNODC. 2007
23. Pomilio AB, Vitale AA, Técnicas para el control cualitativo / cuantitativo de drogas de abuso en fluidos biológicos. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana [Internet]. 2006; 40 (3): 347-382. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53540310>
24. Parco G, Rodriguez J. Determinación de falsos positivos en la identificación de benzodiazepinas en muestras biológicas mediante Cromatografía en Capa Fina (CCF). Huancayo 2018 [Para optar el título de Químico Farmacéutico]. Huancayo: Facultad de farmacia y Bioquímica, Universidad Peruana Los Andes; 2018. Disponible en: <http://repositorio.upla.edu.pe/handle/UPLA/351>
25. Jiménez L, Rodriguez Y. Determinación de una técnica selectiva por cromatografía en capa fina para identificación de Benzodiazepinas. Diciembre 2017. Lima 2017 [Para optar el título de Químico Farmacéutico]. Lima: Facultad de farmacia y Bioquímica, Universidad Norbert Wiener; 2017. Disponible en: <file:///C:/Users/Hp/Downloads/Documents/TESIS%20Jimenez%20Laura%20-%20Rodriguez%20Yessica.pdf>
26. Quicaña E., Sotelo L. Determinación analítica de GHB (Gamma hidroxibutirato) en

líquidos biológicos por HPLC y CCF. Lima 2005 [Para optar el título de Químico Farmacéutico]. Lima: Facultad de farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005. Disponible en:

<http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/556>

27. Hernández R., Fernández C, Baptista P. Metodología De La Investigación: 6a. ed. México D.F.: McGraw-Hill, 2014
28. Fondo editorial Universidad Cesar Vallejo. Referencias estilo Vancouver. Lima 2017
29. Gisbert Calabuig, Juan Antonio, Enrique Villanueva Cañadas. Medicina Legal y Toxicología. Editorial Masson. Sexta Edición.
30. Biancucci GF., González D., Pérez A., Ridolfi A., Strobl A. Manual de procedimientos analíticos toxicológicos para laboratorios de baja complejidad, Argentina; 2007. Disponible en:
<file:///C:/Users/Hp/Downloads/Documents/manual-procedimientos-analiticos.pdf>

| ANEXO A. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES. | | | | | | |
|---|--|---|--|--|---------------------------------------|--|
| VARIABLE | DEFINICION CONCEPTUAL | DIMENSION | INDICADORES | VALORES | CRITERIOS Y ESCALA DE MEDICION | INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS |
| <p>Variable Independiente Muestra de orina</p> <p>Variable Dependiente Identificación de barbitúricos y fenotiazinas.</p> | <p>La muestra biológica de orina, es una muestra biológica, en la cual se pueden analizar diferentes sustancias químicas para determinar la ausencia o presencia de ella. Se puede realizar un análisis cualitativo o cuantitativo, asociando su ingesta a efectos clínicos.</p> <p>Los barbitúricos son grupos de fármacos depresores del sistema nervioso central, que puede incluso tener comportamiento anestésico. Las fenotiazinas son fármacos que actúan a nivel del sistema nervioso central, con actividad antipsicótica, utilizado en casos de trastornos mentales.</p> | <p>Administración de fenotiazinas y barbitúricos</p> <p>Identificación de fenotiazinas y barbitúricos (Cromatografía en Capa Fina).</p> | <p>Detección de fenotiazinas y barbitúricos (visualización de manchas).</p> <p>Valor de Rf (factor de retención)</p> | <p>Recorrido de analito y fase móvil:</p> <p>Menor a 1</p> | <p>Positivo</p> <p>Negativo</p> | <p>El empleo de material bibliográfico determina la recopilación de información para los ensayos de identificación de los barbitúricos y fenotiazinas, la cual se apoyó en guías, manuales, textos y otros, así como el intercambio académico entre estudiantes.</p> <p>Técnica</p> <p>Observación de separación de metabolitos</p> <p>Guía de observación, manuales, protocolos.</p> |

ANEXO B. INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

| Item - código | Fase móvil | Reactivo | Identificado | No identificado |
|---------------------------------------|-------------------|-----------------|---------------------|----------------------------|
| Identificación de Barbitúrcos | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| Identificación de Fenotiazinas | | | | |
| Código | Fase móvil | Reactivo | Identificado | No identificado |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

ANEXO C. CONSENTIMIENTO INFORMADO Y/O ASENTIMIENTO INFORMADO

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación de salud. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados:

Título del proyecto: Determinación de una técnica analítica para identificación de barbitúricos y fenotiazinas en muestras de orina.

Nombre de la participantes: Mary Calle y Beatriz Egusquiza

Propósito del estudio: Determinar una técnica analítica selectiva para identificación de barbitúricos y fenotiazinas en muestras de orina.

Beneficios por participar: Tiene la posibilidad de conocer los resultados de la investigación por los medios mas adecuados (individual o grupal) que le puede ser de mucha utilidad en su actividad profesional.

Inconvenientes y riesgos: ninguno, sólo se pedirá su consentimiento y participación.

Costo por participar: usted no realizará gasto alguno durante el estudio.

Confidencialidad: La información que usted proporcione estará protegido, sólo los investigadores pueden conocer. Fuera de esta información confidencial, usted no será identificado cuando los resultados sean publicados.

Renuncia: Usted puede retirarse del estudio en cualquier momento, sin sanción o pérdida de los beneficios a los que tiene derecho.

Consultas posteriores: Si usted tuviese preguntas adicionales durante el desarrollo de este estudio o acerca de la investigación puede dirigirse a la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener.

Contacto con el comité de ética: Si usted tuviese preguntas sobre sus derechos como voluntario, o si piensa que sus derechos han sido vulnerados, puede dirigirse al, presidente del comité de Ética de la Universidad Norbert Wiener.

Participación voluntaria: Su participación en este estudio es completamente voluntaria y puede retirarse cualquier momento.

DECLARACION DE CONSENTIMIENTO: Declaro que he leído y comprendido, tuve tiempo y oportunidad de hacer preguntas, las cuales fueron respondidas satisfactoriamente, no he percibido coacción ni he sido influido indebidamente a participar o continuar participando en el estudio y que finalmente acepto voluntariamente en el estudio.

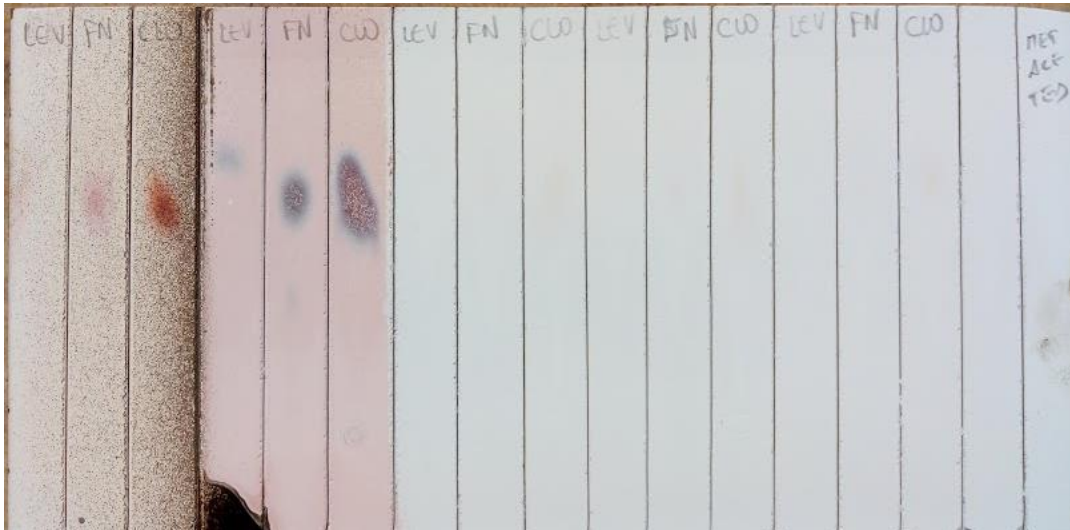
.....

.....
USUARIO (A)
DNI

INVESTIGADOR (A)
DNI

ANEXO D. EVIDENCIAS DE TRABAJO DE CAMPO

FIGURA 1. IDENTIFICACION DE FENOTIAZINAS



En la figura podemos observar la Identificación de fenotiazinas (Clorpromazina y levopromazina) en la fase móvil metanol, acetona y trietanolamina (1:1:0.02). Se muestra una coloración marrón azulado para el Iodoplatinato y rojizo para el permanganato de potasio.

Rf (Iodoplatinato): $5 / 7 = 0.71$

RF (permanganato): $5.5 / 7 = 0.78$

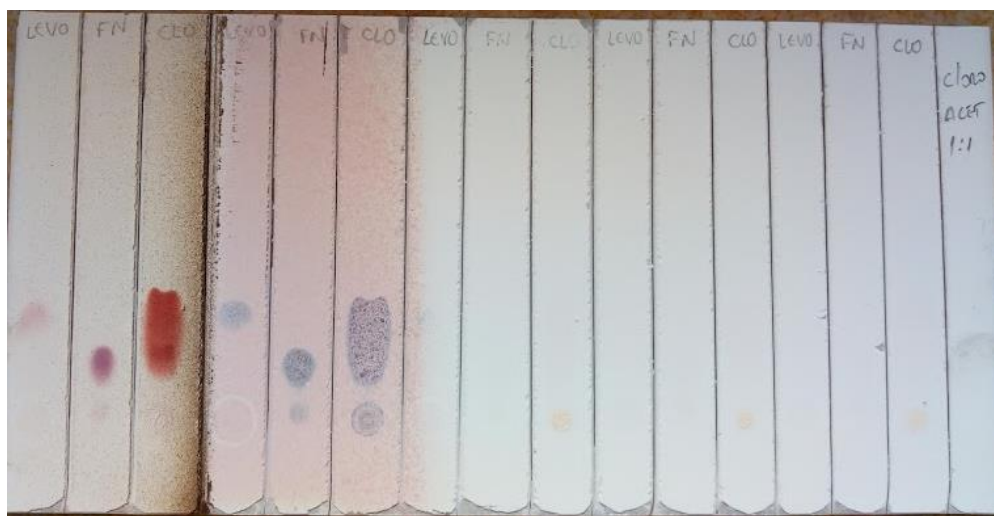
FIGURA 2. IDENTIFICACION DE FENOTIAZINAS



Fuente propia. Identificación de fenotiazinas (Clorpromazina y levopromazina) en la fase móvil cloroformo/acetona (8:2). Se muestra una coloración marrón azulada para el iodoplatinato y rojizo para el permanganato de potasio.

Rf: $2.8 / 7 = 0.4$

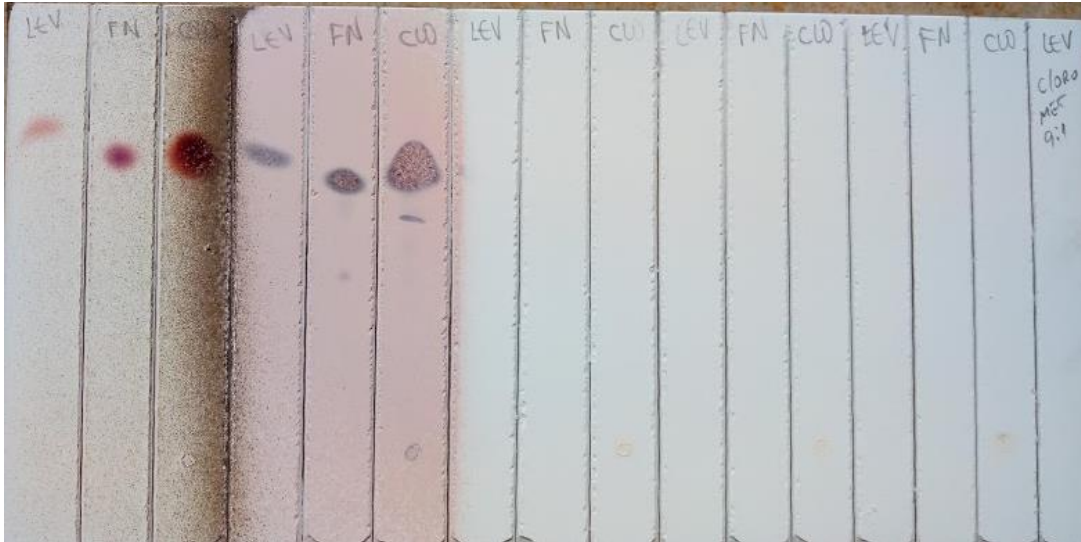
FIGURA 3. IDENTIFICACIÓN DE FENOTIAZINAS



Fuente propia. Identificación de fenotiazinas (Clorpromazina y levopromazina) en la fase móvil cloroformo/acetona (1:1). Se muestra una coloración marrón azulada para el Iodoplatinato y rojizo para el permanganato de potasio con diferentes Rf.

$$R_f: 3.3 / 7 = 0.47$$

FIGURA 4. IDENTIFICACIÓN DE FENOTIAZINAS.



Fuente propia. Identificación de fenotiazinas (Clorpromazina y levopromazina) en la fase móvil cloroformo/metanol (9:1). Se muestra una coloración marrón azul para el Iodoplatinato y rojizo para el permanganato de potasio alcanzando un Rf: $5.8 / 7 = 0.82$

FIGURA 5. IDENTIFICACIÓN DE BARBITURICOS

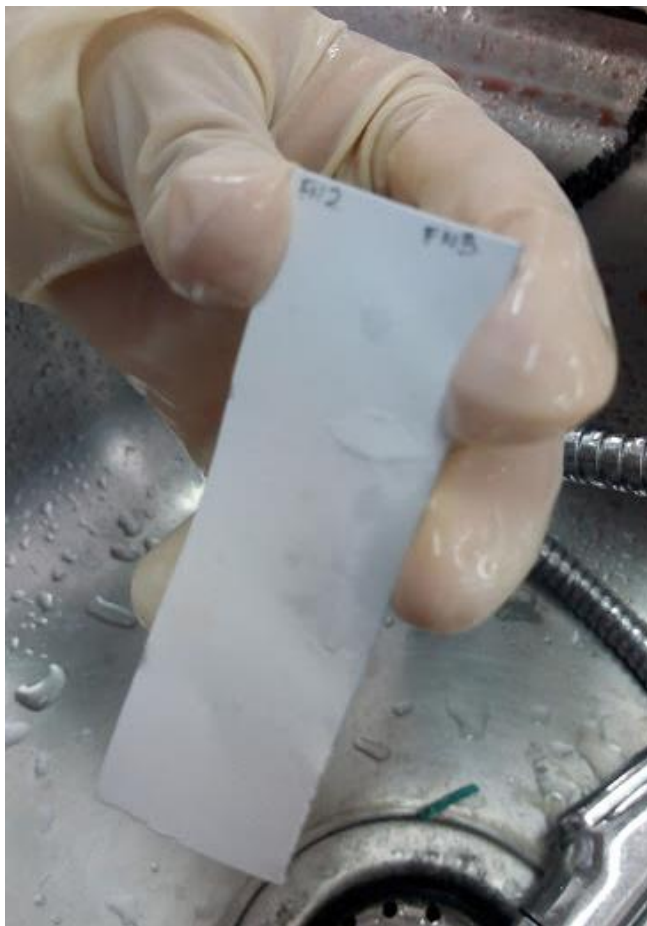


Figura 5. Identificación de Barbituricos (fenobarbital) en la fase móvil cloroformo/acetona (8:2). Se muestra una coloración blanquecina para el mercurio.

FIGURA 6. IDENTIFICACIÓN DE SUSTANCIAS



Figura 6. Identificación de fenotiazinas empleando el aspensor en la Universidad Norber Wiener, fase de revelado.

FIGURA 7. ENSAYOS DE IDENTIFICACION



Figura 7. Ensayos de identificación de sustancias.

FIGURA 8. LABORATORIO DE UNIVERSIDAD NORBER WIENER



Figura 8. Fase de extracción, obtención de fase ácida y alcalina.

FIGURA 9. METODO DE SIEMBRA



Figura 9. Método de sembrado

FIGURA 10. PREPARACIÓN DE FENOTIAZINAS Y BARBITÚRICOS PARA ESTÁNDAR



Figura 10. Br. Beatriz Mery Suarez Egusquiza.