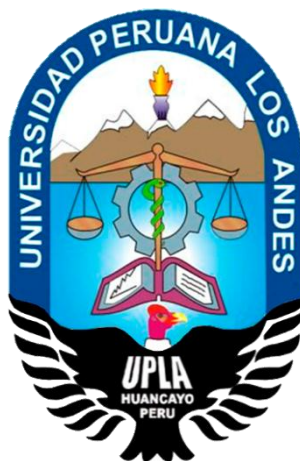


# UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

## Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



### TESIS

**“DETERMINACIÓN DE FALSOS POSITIVOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE BENZODIACEPINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA”.**

**Para Optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico**

**Autores:**

**Bachiller. PARCO VIDALON, Gyordi Elvis**

**Bachiller. RODRIGUEZ CARBAJAL, Jorge Luis**

**Asesor:**

**Q.F. Néstor Rolando Lazo Beltrán**

**Área de Investigación:**

**Evaluaciones Toxicológicas.**

**Línea de Investigación:**

**Toxicológica, Química Legal y Toxicología  
Medioambiental**

**Institución de Investigación:**

**Laboratorio de Toxicología Forense-VIII  
REGPOL-JUNIN.**

**Huancayo, Perú**

**2018**

## **DEDICATORIA**

A mis padres Estela y Teofilo, las personas más importantes de mi vida, porque sin ellos yo no sería nada, gracias por brindarme una educación plena, que me permite ser lo que soy.

A la Q.F Esther Nancy Quispe Quispe, gracias por su tiempo, apoyo y sabiduría transmitida en el desarrollo de esta investigación para mi formación profesional.

**Gyordi E. Parco Vidalon**

A Dios por la vida y la fortaleza para seguir adelante.

A mis maestros, gracias por su tiempo, por su apoyo y sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional; por haber guiado el desarrollo de este trabajo y llegar a la culminación del mismo.

A todos mis hermanos, por apoyarme y ayudarme en los momentos más difíciles.

**Jorge Luis Rodríguez Carbajal**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por habernos concedido llegar hasta este punto, alcanzando nuestros objetivos con felicidad y alegría. Aprendimos a afrontar y alcanzar cada reto planteado. Gracias señor por enseñarnos día a día que los sueños se pueden alcanzar.

A Mg, Q.F Norma Baltazar Jiménez, por todo el apoyo brindado en el Laboratorio de Toxicología de la Policía Nacional del Perú, ya que a sido un privilegio contar con su guía y ayuda, así como por sus acertados consejos.

A nuestros padres, por habernos dado esta vida que hoy nos permite alcanzar nuestras metas llenas de satisfacción y alegría.

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
ÍNDICE	III
ÍNDICE DE TABLAS	V
ÍNDICE DE GRÁFICOS	VI
RESUMEN	VII
ABSTRACT	VIII
CONCEPTOS CLAVES	IX
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	11
1.1 Planteamiento del problema	11
1.2 Descripción y delimitación del problema	13
1.3 Formulación del problema	13
1.4 Justificación	13
1.5 Objetivos	14
1.6 Marco Teórico	14
CAPÍTULO II: MÉTODO	37
2.1. Metodología de la Investigación	37
2.2. Tipo y Nivel de investigación	38
2.3. Diseño de la Investigación	38
2.4. Población	38
2.5. Muestra	39
2.6. Técnicas de Recolección de Datos	39
2.7. Procesamiento de Datos	39
CAPÍTULO III: RESULTADOS	40
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS Y DISCUSIÓN	49
CAPÍTULO V: CONCLUSIÓN	57
CAPITULO VI: RECOMENDACIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59
ANEXOS	63

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>CUADRO I:</b> FARMACOCINÉTICA DE BENZODIAZEPINAS	18
<b>CUADRO II:</b> HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS VARIABLES CONTINUA	41
<b>CUADRO III:</b> TIEMPO DE VIDA MEDIA POR MUESTRA FARMACOLÓGICA	42
<b>CUADRO IV:</b> VARIABLES CONTINUAS Y CÁLCULO DE MEDIDA DE TENDENCIA CENTRAL	43
<b>CUADRO V:</b> HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE VARIABLES CONTINUAS VS TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN	44
<b>CUADRO VI:</b> HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE MEDIDA DE TENDENCIA CENTRAL VS PESO Y TALLA	45
<b>CUADRO VII:</b> HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	46
<b>CUADRO VIII:</b> HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE RESULTADOS DE FALSOS POSITIVOS Y NEGATIVOS	47
<b>CUADRO IX:</b> TIPOS DE DIAGNÓSTICOS EN IDENTIFICACIÓN DE BENZODIAZEPINAS	51
<b>CUADRO X:</b> RESULTADOS DE FALSOS POSITIVOS POR MUESTRAS FARMACOLÓGICAS REACCIONES CON EL RX DRAGUENDORFF	53
<b>CUADRO XI:</b> NOMENCLATURA DE FALSOS POSITIVOS (F.P) Y FALSOS NEGATIVOS (F.N)	54

<b>CUADRO XII:</b> DETERMINACIÓN DE TASAS CENTRALES DE FALSOS POSITIVOS Y NEGATIVOS	<b>55</b>
<b>CUADRO XIII:</b> DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD EN FUNCIÓN A LAS TASAS DE FALSOS POSITIVOS Y NEGATIVOS	<b>56</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
<b>GRAFICO 1:</b> PREPARACIÓN DE REACTIVO DRAGUENDORFF	<b>48</b>
<b>GRAFICO 2:</b> RECTA DE CALIBRACIÓN DE SENSIBILIDAD VS FALSOS POSITIVOS	<b>58</b>

## **RESUMEN**

### **DETERMINACIÓN DE FALSOS POSITIVOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE BENZODIAZEPINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA**

La presente investigación tuvo como Objetivo Determinar falsos positivos en la identificación de Benzodiazepinas en muestras biológicas mediante cromatografía de capa fina. Utilizando una Metodología de diagnósticos, tipo descriptivo, correspondiente al estudio básico y de carácter transversal. Resultados. Se realizó las investigaciones toxicológicas obteniendo como resultados en las muestras M2 Doxiciclina de 100 mg, M3 SMT/TMP de 800 mg/160 mg resultados negativos. Por su naturaleza farmacológica en la que se destacan la ausencia del anillo Imidazol. Las muestras de M1 Metamizol 500 mg, M4 Celecoxib 200 mg, M5 Ibuprofeno 800 mg, M6 Metronidazol 500 mg y M7 Diazepam 10 mg presentan un falso positivo, luego del revelado con el Reactivo Dragendorff pudiendo concluir que en la experimentación se determinaron falsos positivos en muestras biológicas en la identificación de Benzodiazepinas mediante cromatografía.

**PALABRAS CLAVE:** cromatografía de capa fina, Reactivo Dragendorff, muestras biológicas de ratones.



## **SUMMARY**

### **DETERMINATION OF FALSE POSITIVES IN THE IDENTIFICATION OF BENZODIACEPINES IN BIOLOGICAL SAMPLES THROUGH FINE COAT CHROMATOGRAPHY**

The objective of the present investigation was to determine false positives in the identification of benzodiazepines in biological samples by means of thin layer chromatography. Using a Diagnostic Methodology, descriptive type, corresponding to the basic and transversal study. Results The toxicological investigations were carried out obtaining as results in the samples M2 Doxycycline of 100 mg, M3 SMT / TMP of 800 mg / 160 mg negative results. Due to its pharmacochemical nature, the absence of the Imidazol ring stands out. The samples of M1 Metamizol 500 mg, M4 Celecoxib 200 mg, M5 Ibuprofen 800 mg, M6 Metronidazole 500 mg and M7 Diazepam 10 mg present a false positive, after the development with the Dragendorff Reagent, being able to conclude that in the experimentation false positives were determined in biological samples in the identification of benzodiazepines by chromatography

**KEYWORDS:** thin layer chromatography, Dragendorff Reagent, biological samples from mice.

## TÉRMINOS CLAVE

1. **Sedante:** Los sedantes son sustancias químicas con estructura definida que tiene como acción deprimir el sistema nervioso central (SNC), siendo que producen efectos potenciales entre calma, reducen la ansiedad, el adormecimiento, la disnea y el retardo de efectos reflejo.
2. **Reactivo Dragendorff:** Es un compuesto que contiene tetra yodo, bismuto de potasio con la aplicación de este reactivo se puede identificar la presencia del alcaloide, pronunciándose la formación de un precipitado naranja rojizo, a la vez que se le adiciona una solución ácida que contiene los alcaloides
3. **Tranquilizante:** Son fármacos que actúan como depresoras del SNC, que al administrarse a dosis bajas pueden disminuir los estados de excitabilidad nerviosa, y administradas a dosis elevadas pueden inducir al sueño.
4. **Ansiolítico:** Son fármacos psicotrópicos con acción depresora del SNC, su finalidad está en disminuir los síntomas de la ansiedad sin producir sedación o sueño.
5. **Benzodiazepinas:** Son fármacos que tienen acción sobre el SNC, produciendo efectos como sedación, efectos hipnóticos, ansiolíticos, anticonvulsivantes y miorelajantes. Pero su principal funcionamiento está en producir efectos hipnóticos y ansiolíticos.
6. **Ilícitas:** Es cuanto contraviene a lo permitido, por ello está en el margen de lo no permitido legal o también en el aspecto moral.
7. **Trastorno:** El trastorno es una alteración o mal funcionamiento de un organismo ya sea en parte o totalidad de él, en lo mental de una persona o en su equilibrio psíquico.
8. **Medicamentos:** Son sustancias químico – orgánica compuestas en una presentación farmacéutica, presentado para el expendio y uso clínico, dotado de principios farmacológicos con el fin de prevenir, aliviar o mejorar el estado de salud.
9. **Lícitas:** Es referente a lo justo, a lo permitido, de acuerdo a ley.

10. **Cromatografía de capa fina:** Es un método que se emplea para la separación de una mezcla, también de dos o más compuestos, esto por la distribución entre dos fases, fases denominada como estacionaria y fase móvil.
11. **Hipnótico:** Fármaco que produce altera el SNC provocando somnolencia y a la vez facilita la iniciación y conservación de un estado de sueño similar al natural.
12. **Falsos Positivos:** Son resultados o pruebas que se consideran verdaderas pero que luego se demuestran falsas. La certeza o falsedad depende de la capacidad del observador de evaluar las evidencias.

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

### **1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En los últimos años se ha demostrado que a nivel mundial cada año se reportan delitos por tráfico ilícito de drogas, homicidios, envenenamiento e intoxicación por Benzodiazepinas, todo esto se debe al elevado e indiscriminado consumo de dicha droga, ya que la ausencia de un correcto seguimiento de su prescripción, las convierte en drogas de abuso, con consecuencias negativas para la salud pública y el bienestar de la sociedad. “La necesidad de disponer de métodos analíticos fiables para el control de estas drogas ha propiciado la investigación mediante procedimientos de preparación de muestra y técnicas de determinación cromatográficas.”

Es necesaria la detección de las Benzodiazepinas para determinar el uso indiscriminado, la farmacodependencia, la ingesta descontrolada, para descartar intoxicaciones, como pruebas iniciales para un tratamiento, para investigar el cumplimiento en la medicación y para descubrir un hecho delictivo. Algunas Benzodiazepinas se han utilizado con propósitos delictivos como en robos,

secuestros y violaciones; su utilización se da al ocultarlas en combinación con comida o licor; las Benzodiazepinas al poseer efectos amnésicos fuertes se pueden utilizar para cometer actos de extrema violencia.

La Organización Mundial de Salud (OMS), arroja cifras calculando que en el año 2033 morirán cerca de 23.8 millones de personas por paro Cardio Respiratorios sobre todo por accidentes ilícitos que atentan contra la vida humana teniendo como principal causa el uso inadecuado por Benzodiazepinas.

En el Perú la muerte por uso ilícito de Benzodiazepinas es frecuente en las personas mayores de 65 años. Siendo el (42 % varones y el 27 % en mujeres). Esto se da porque guarda cierta relación con delitos sexuales y relacionados al crimen organizado.

Así también en el departamento de Junín, DIRESA JUNÍN, señala que la muerte por paro Cardio Respiratorio ocasionado por Benzodiazepinas representa la principal causa de muertes. Expendidas con total libertad en establecimientos farmacéuticos de la región centro. Por ende, es fundamental determinar el grado de confidencialidad de los análisis químicos cualitativos en la determinación de muertes por intoxicación por Benzodiazepinas.

Existen investigaciones que demuestran un elevado aumento del consumo de Benzodiazepinas, aumento que no tiene relación con las prescripciones médicas o las recomendaciones necesarias para su uso. Como ejemplo tenemos a España donde las cifras aumentaron a un 88% en el uso indiscriminado de las Benzodiazepinas, país que tiene una Agencia de Medicamentos de largo tiempo y con fuerte tradición en farmacovigilancia. La investigación realizada por García del Pozo demostró que entre 1995 y 2002 se incrementó en ese país el uso de Benzodiazepinas de 39.7% como Dosis Diaria Definida cifras que representan un aumento significativo en el uso de Benzodiazepinas. Describe que dicho aumento se debió principalmente a su uso como ansiolíticos más que como hipnótico.

## **1.2 DESCRIPCIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA**

El presente estudio se realizará exclusivamente en ratas albinas de raza whistar que serán inducidos a los medicamentos, para ser luego serán sometidos al reactivo Dragendorff mediante cromatografía de capa fina, llevándose a cabo en el laboratorio de la Universidad Peruana los Andes en distrito de Huancayo, provincia de Huancayo, departamento de Junín entre agosto y noviembre de 2017

## **1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Qué fármacos muestran falsos positivos en la identificación de Benzodiazepinas mediante el revelado Dragendorff por cromatografía en capa fina?

## **1.4 JUSTIFICACIÓN**

### **1.4.1 Teórica**

La presente investigación es importante porque permitirá conocer el grado de confiabilidad del reactivo Dragendorff en muestras biológicas, para que de esta manera puedan apoyar a las ciencias químicas forenses, como también respaldar los procesos legales más confiables, que sirvan para que futuros investigadores profundicen el tema y desarrollen métodos más aplicables para la sociedad política legal.

### **1.4.2 Social**

El principal interés o motivo de esta investigación es disminuir la gran cantidad de delitos por el uso inadecuado de Benzodiazepinas atentando contra la libertad sexual, obteniendo un juicio analítico-critico de los procesos legales contra el pudor; siendo respaldados por las ciencias químicas forenses. Por lo tanto, esta investigación aportará el desarrollo de nuevos métodos cualitativos en la investigación criminalística.

### **1.4.3 Metodológica**

En la investigación se hará uso de un método para la determinación de analitos de Benzodiazepinas, antibióticos y AINES por cromatografía en capa fina de forma más sencilla, que permita desplazar métodos más clásicos de análisis en sustancias químicas fiscalizadas.

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1 Objetivo general**

Determinar medicamentos que presentan falsos positivos en la identificación de Benzodiazepinas en muestras biológicas mediante cromatografía de capa fina

### **1.5.2 Objetivos específicos**

- Identificar principios activos que reaccione positivamente con el reactivo Dragendorff en la identificación de Benzodiazepinas en muestras biológicas.
- Establecer el grupo funcional reaccionante en cada metabolito activo que inducen falsos positivos con el reactivo Dragendorff.
- Demostrar la existencia de medicamentos que presentan falsos positivos en la identificación de Benzodiazepinas, antibióticos y AINES mediante cromatografía de capa fina.

## **1.6. MARCO TEÓRICO**

### **1.6.1. Antecedentes de estudio**

Viviana Domínguez y Colaboradores, “realizaron un estudio sobre el Perfil epidemiológico de las intoxicaciones por BDZ recibidas por el Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico Uruguayo durante los años 2010 – 2011, con el objetivo de identificar el perfil epidemiológico producidas a través de intoxicaciones por Benzodiazepinas, para ello se analizaron todas los casos de intoxicaciones que implicaron Benzodiazepinas. Teniendo como resultado 21.452 consultas de presunta intoxicación en las cuales se vinculó a las

Benzodiazepinas como causante tóxico implicado en un 28,83% de casos registrados. Además concluyeron que las intoxicaciones reportadas en otras partes del mundo involucran un alto porcentaje de población pediátrica, a la vez que se observó un índice elevado de intoxicación por BZD en personas adultas con el 10% del total de los casos registrados y en mujeres con un 30% de los casos registrados. Siendo que el clonazepam, el diazepam y alprazolam las BZD con más frecuencia implicadas.”

Acevedo Alba, “realizó un estudio sobre la estandarización y validación del método por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masa (GC-MS), para analizar tres tipos de BZD y sus respectivos metabolitos en muestras biológicas de mucho interés forense realizado en el instituto nacional de medicina legal y ciencias forenses, con el objetivo de Estandarizar y validar la metodología para la confirmación de tres Benzodiazepinas con sus respectivos metabolitos sobre muestras de interés forense empleando Cromatografía de Gases acoplado a espectrometría de Masas. Con ello arrojaron resultados obtenidos de acuerdo a la validación del método que permiten asegurar la confiabilidad y precisión del método, ya que este cumple con los criterios de validación en la identificación de Benzodiazepinas y sus metabolitos en fluidos de interés forense”.

Linares M, “realizó una investigación sobre la identificación de metabolitos de BZD en orina a través de las técnicas de inmunoensayo y GC/MS, con el objetivo de diagnosticar el abuso del consumo de Benzodiazepinas en el marco de un proceso penal, como monitoreo clínico en toxicología y en tratamientos de rehabilitación. Los resultados a los que arribaron con la investigación confirmaron que los métodos son fundamentales en cualquier investigación criminalística con la finalidad de esclarecer un hecho delictivo con ello las técnicas de inmunoensayo resultaron adecuadas para otorgar respuestas cualitativas rápidas y confiables sobre el consumo de BZD en uso simultaneo con el método de cromatografía de gas y espectrometría de masas, que se consideran como técnicas válidas de confirmación”.



Danza A y colaboradores, “llevaron a cabo un estudio sobre los riesgos asociados al uso de Benzodiazepinas con la finalidad de promover un uso racional, basado en fundamentos de eficacia y seguridad, determinando poblaciones de riesgo. Obteniendo como resultado que los riesgos asociados al uso de Benzodiazepinas son; caídas, trastornos cognitivos, uso en población de edad avanzada y adicción. Destacando la aparición precoz de tolerancia y dependencia asimismo, las complicaciones en su retiro luego de consumo por períodos prolongados.”

Riquelme P, “estudió el uso de Benzodiazepinas y su relación con la incidencia de Reacciones adversas en pacientes adultos mayores de tratamiento crónico ambulatorio en establecimientos dependientes del servicio de salud Valdivia, con el objetivo de Caracterizar el uso de Benzodiazepinas en pacientes adultos mayores con tratamiento crónico ambulatorio y usuarios de los establecimientos, teniendo como resultado que las reacciones adversas más frecuentes a medicamentos en los ancianos son; la agitación, depresión, deterioro cognitivo, síndromes extra piramidales, ataxia, caídas, hipotensión postural, problemas urinarios y estreñimiento.”

Pinos N y colaboradores, “determinaron el consumo de Benzodiazepinas sin prescripción médica en los/as Estudiantes de primer año de la escuela de enfermería de la universidad de Guayaquil, Ecuador, con la finalidad de determinar el consumo de BZD sin la prescripción adecuada en estudiantes del primer año de enfermería de una universidad estatal del Ecuador. Mediante los resultados se obtuvo que el 10,5% de los estudiantes consumió Benzodiazepinas sin autorización médica alguna vez en la vida. Infiriendo que el 6,1% consumió en el último año y el 3,9% consumen actualmente. El Diazepam fue la benzodiazepina más usada sin prescripción médica, siendo la farmacia el local de mayor acceso. Añade que los motivos principales para el consumo de BZD se encuentran: insomnio, ansiedad, estrés, depresión y problemas familiares o económicos.”

## 1.6.2. Bases teóricas

### 1.6.2.1. Benzodiazepinas

#### A. Definición

Las Benzodiazepinas (BZD) según Virginia Labrea “son fármacos psicotrópicos que actúan a nivel del sistema nervioso central, entendiéndose que dichos medicamentos modifican el estado de conciencia. Son prescritos para tratar el insomnio, la ansiedad, la epilepsia, el alcoholismo, previa a procedimientos invasivos.”

#### B. Estructura

Según Söllhuber M, Avendaño C “Las BZD están estructuradas por un anillo bencénico (A) unido a un anillo diazepínico (B).”

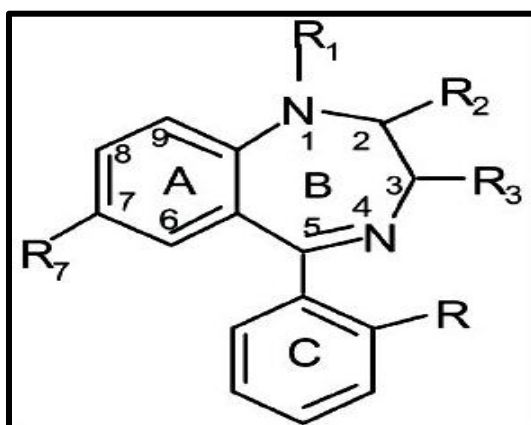


Figura 1. Estructura química de las Benzodiazepinas

#### C. Tipos

En el mercado o dentro de la comercialización del fármaco benzodiazepina podemos encontrar variantes de estas, siendo que cada una provee un tipo de duración o tiempo determinado dentro del organismo sobre el cual se suministró.

Tenemos así que Carrión Bolaños “menciona a los fármacos como: Diazepam, Clordiazepóxido. Flunitrazepam, Nitrazepam, Lorazepam, Lormetazepam, Alprazolam, Bromazepam, Midazolam.”

A la vez tenemos que Hernán Martínez “realiza un listado de los tipos de Benzodiazepinas las cuales son: Diazepam, Clordiazepoxido, Clonazepam, Clorazepato, Flunitrazepam, Lorazepam, Bromazepam, Alprazolam, Oxazepam, Midazolam, Triazolam.”

Desde este punto vemos que Martínez da un añadido en cuanto a la diversidad de fármacos en relación con las Benzodiazepinas incluyendo a Clonazepam, Clorazepato; observando asimismo que los derivados de las Benzodiazepinas poseen una vida media de acuerdo a características y el tiempo en función a las horas como en 24 horas, en 12 a 24, 6 a 12, entre otros.

No obstante, tenemos Benzodiazepinas de acción corta y larga que a continuación se muestran en el siguiente cuadro:

**Tabla 1: Farmacocinética de Benzodiazepinas**

**Cuadro 1**

Fármaco	Semivida plasmática	Tmax (h)	Metabolitos activos	Absorción oral	Biodisponibilidad oral %	Eliminación renal
<b>Acción corta</b>						
Midazolam	1 – 3 h	30 min	Si	Muy rápida	90%	80%
Triazolam	2 – 4 h	2h	No	Muy rápida	99 – 100%	90%
Bentazepam	3 – 4, 5 h	0,65 – 1,45h		Rápida	86%	80%
Brotizolam	5 h	1h		Rápida	70%	75%
Clotiazepam	5 – 6 h	0,5 – 1,5h	No	Muy rápida		90%
Loprazolam	7 – 8 h	1 – 2h	Si	Rápida	80%	39%
Oxazepam	7 – 10 h	2 – 3 h	No	Lenta	90 – 95%	90%
Lormetazepam	10 h	0,5h		Muy rápida	80%	90%
Lorazepam	12 h	2h	No	Lenta	90%	90%
Alprazolam	11 – 13 h	1 – 2h	No	Muy rápida	80%	80%
<b>Acción larga</b>						
Pinazepam	15 – 17 h		Si	Muy rápida		
Bromazepam	8 – 19 h	1 – 4h	Si	Muy rápida	84%	85%
Clobazam	20 h	2h	Si	Lenta	100%	85%
Flunitrazepam	15 – 24 h	1h	No	Muy rápida	90 – 95%	81%

Clordiazepoxido	7 – 28 h	2 – 4h	Si	Lenta	100%	90%
Nitrazepam	25 – 30 h	2h	No	Rápida	78%	70%
Halazepam	15 – 35 h		Si	Lenta		
Diazepam	15 – 60 h	30 – 90 min	Si	Muy rápida	99%	90%
Quazepam	25 – 41 h	2h	Si	Muy rápida		70%
Clorazepato dipotasico	30 – 60 h	1h	Si	Rápida	100%	90%
Ketazolam	50 – 100 h	3h	Si	Lenta		
Flurazepam	51 – 100 h	2, 3h	Si	Muy rápida	3 – 4%	98%

Fuente: Hernán Martínez Facultad de Psicología UBA

Debemos de tener en cuenta estos tipos de fármacos derivados de la Benzodiazepina; ya que, con ello obtenemos criterios de selección para el tipo de tratamiento sobre el cual se debe de diagnosticar y según el tipo de trastorno.

#### D. FARMACOCINÉTICA DE LAS BENZODIAZEPINAS

La farmacocinética de las Benzodiazepinas están atribuidas al proceso de administración y control sobre la cantidad que llegara al organismo. Se entiende que la farmacocinética de las Benzodiazepinas variara según el tipo al cual se suministra y al tiempo y las dosis en relación a estas. Podemos apreciar estas diferencias de acuerdo al cuadro 1 líneas arriba.

Además, la farmacocinética tendrá variaciones de acuerdo a diversos factores. Al respecto nos dice Gámez Lechuga “los factores que influyen en la variabilidad inter e intraindividual son: dosis administrada, funcionalismo hepático, edad del sujeto, administración de las dosis en única o múltiple del fármaco, la liposolubilidad del medicamento e interacciones farmacológicas.”

Hernán Martínez nos da un panorama de las vías de administración y el tipo de benzodiazepina que debe de administrarse, que son:

- **Oral.** - es la vía más utilizada para las BZD, ya que la absorción se dará por medio de las a la moléculas las cuales se atravesaran el tubo digestivo.

- **Sublingual.** - es la más directa para la llegar a la circulación sistémica. Las BZD prescritas en esta vía son Lorazepam, alprazolam y clonazepam.
- **Intramuscular.** - la benzodiazepina que se utiliza para el uso intramuscular es el Lorazepam. Además se puede utilizar el midazolam como hipnótico. Las otras drogas tienen absorción imprecisa mediante esta vía.
- **Endovenosa.** – su medicación se da cuando ocurren situaciones de agitación extrema, para lograr así una sedación rápida. Se utiliza: el diazepam, el Lorazepam o midazolam.

### **Vía de administración oral**

La vía de administración también depende de la absorción, al respecto Mara Barreto dice, “la mayoría de las BZD (excepto el clorazepato) se absorben convenientemente bajo la administración oral, exclusivamente si el estómago se encuentra vacío. Si el estómago está lleno retrasa a la administración oral, aunque la cantidad de absorción total no disminuye. En algunos casos los antiácidos pueden variar la absorción de las BZD por lo que se recomienda que sean ingeridas lejos de la administración de los mismos. Luego de haberse realizado la administración oral el pico plasmático se logra entre la media y la sexta hora post – ingesta, encontrándose diferencias entre las fármacos del grupo de Benzodiazepinas.”

### **Vía de absorción hepático**

En el aspecto de metabolismo hepático, Gámez comenta que “la mayoría de Benzodiazepinas poseen metabolismo hepático y sus metabolitos son activos. La eliminación se da principalmente por orina, en forma de glucoronido, sin actividad farmacológica.”

No obstante, el factor liposolubilidad, mencionando a Gámez describe que la liposolubilidad aparece como un factor importante en el inicio de acción, como en la semivida de expulsión o eliminación del fármaco y la permanencia o tiempo de duración de la acción.

Los fármacos como clonazepam, alprazolam, Lorazepam son de fácil absorción vía sublingual, no obstante, a ello la velocidad de absorción es más rápido que la administración oral. Mara Barreto indica que “existen presentaciones de Benzodiazepinas para la administración sublingual (clonazepam, alprazolam, Lorazepam). Los cuales tienen una velocidad de absorción ligeramente superior a la oral, siendo que la utilidad que adquieren queda reducida para aquellos pacientes que tienen dificultades para ingerir o para aquellos pacientes que tienen el estómago ocupado por haber ingerido una comida recientemente, y requieren de una rápida absorción del fármaco, ya que, al estar el estómago lleno se retarda la absorción de las BZD.”

Por la vía intramuscular la absorción difiere con relación a cada BZD y del sitio de aplicación. En general se acepta que deben aplicarse en músculos con buena irrigación, como el deltoides. El Lorazepam y midazolam se absorben bien por esta vía. El diazepam posee una absorción intramuscular errática.

Por la vía intravenosa se utilizan las BZD con el objetivo de la sedación pre-anestésica, asimismo para el tratamiento de las convulsiones. Sin embargo, esta vía intravenosa se limita para casos de emergencia en psiquiatría. Con ello toda vez que se administren BZD por vía intravenosa la disolución debe ser lenta (1 a 2 minutos) para prevenir el riesgo de depresión respiratoria que existe con la infusión intravenosa de velocidad rápida o Bolus.

## **E. MECANISMO DE ACCIÓN**

Dentro de los mecanismos de acción tenemos al ácido gamma-aminobutírico o también conocido como GABA es un neuro transmisor inhibitorio, que tiene funciones directas con el sistema nervioso central en adelante SNC. Actúa así sobre receptores específicos denominados GABA A, GABA B y GABA C. los cuales se conocen como potenciales postsinápticos inhibidores.

Estos neurotransmisores son parte del Sistema Nervioso Central que al ser componentes emite mensajes químicos por el cerebro y el sistema nervioso. En otras palabras, participa en la comunicación entre neuronas.

“El **ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA)** al ser un aminoácido no proteico se encuentra ampulosamente en microorganismos, plantas y animales. Es la sustancia principal localizada en el sistema nervioso central (SNC) de mamíferos como agente inhibidor. Desempeña el papel principal en la reducción de excitabilidad neuronal a lo largo del sistema nervioso. Además el Gaba o aminobutírico es responsable del tono muscular en los seres humanos.”

Tenemos que el GABA o ácido aminobutírico es parte principal del sistema nervioso central, realiza la función de inhibidor reduciendo la excitabilidad neuronal. Entonces el neurotransmisor GABA es aquel medio sobre las cuales las Benzodiazepinas generan efectos sobre el SNC. Es decir al producirse la absorción o metabolismo de las Benzodiazepinas estas se introducen al SNC mediante los canales GABA produciendo efectos destinadas a calmar la ansiedad o el nerviosismo.

#### **Los GABA Efectos:**

- Al ser consumida los efectos que produce se dan en aproximadamente 60 minutos luego de su administración, es un efecto relajante. Disminuye los problemas de ansiedad en los sujetos voluntarios con buena salud en condiciones de estrés. Asimismo, tiene como efecto reforzar el sistema inmunitario, que fue debilitado por el estrés.
- Además como efectos favorables para la relajación y el sueño, es muy distinto a numerosos fármacos o somníferos que se van dirigiendo hacia los receptores del ácido aminobutírico, como fármaco este último no genera somnolencia diurna o causa adicción. Actúa como inductor al sueño y no como un somnífero.
- Los efectos del GABA pueden verse reducidos si existe dolor crónico, que pueden reducir los niveles de absorción de este elemento. Sin embargo, puede suceder que al tener la capacidad de bajar los niveles de estrés, se podría bajar la intensidad del dolor
- Los estudios revelan que los niveles y la actividad del GABA bajan según el aumento de edad del sujeto, esto a raíz que baja la mayoría de

marcadores que tienen que ver con la adolescencia o juventud. Se cree o se entiende que esa disminución de niveles de ácido gamma-aminobutírico está relacionado al proceso del envejecimiento del sujeto, lo cual va acompañado de trastornos del movimiento (ataxia) y algunas otras patologías, como el Corea de Huntington.

- Además los efectos GABA son favorables para liberar somatotropina, conocida también como la hormona del crecimiento siendo una de las hormonas con mayor importancia del cuerpo ya es secretada por la hipófisis o pituitaria. A su vez, la somatotropina entre otras funciones, es encargada del desarrollo muscular, también previene enfermedades y es antienvjecimiento.

### **Localización de los receptores GABA**

Los receptores GABA se ubican en el encéfalo como un neurotransmisor inhibitorio. Estos receptores se generan a partir del glutamato.

Mynor Leiva nos dice que “el principal neurotransmisor inhibidor del cerebro es el GABA, añade, además, que es sintetizado a partir de glutamato en una reacción catalizada por el glutamato descarboxilasa.”

También Hernán Martínez acota que “el GABA se forma en las neuronas a partir de su precursor, el glutamato, un aminoácido excitatorio. Al formarse estas, permanecen dentro de las neuronas acumulado en vesículas. Al aparecer un estímulo nervioso que induce a la célula a actuar, las vesículas se acercan a la membrana presináptica, se adosan a ella y se abren hacia el exterior, liberándose el neurotransmisor GABA. Una vez establecidas en el espacio sináptico, va a interactúan con los receptores GABA Y, y finalizan su acción al ser retiradas del espacio sináptico por efecto de la captación neuronal (principalmente postsináptica), y no neuronal (células de glía).”



## **Tipos de receptores para el GABA**

El ácido gamma-aminobutírico o GABA en su función tiene acción sobre diversos receptores los cuales producen efectos distintos al combinarse o encontrarse con las Benzodiazepinas.

Estos receptores se clasifican en 3 tipos, siendo los receptores GABA A, B y C. son diversos los autores que coinciden en la clasificación de los receptores GABA.

Hernán Martínez menciona; “hay tres receptores para el neurotransmisor GABA: GABA A, GABA B y GABA C; distintos y de localización diferente, su acción se basa en la producción de la hiperpolarización de las células sobre las que actúan. Se estima que a partir de la interacción de las Benzodiazepinas con los receptores GABA A se producen los efectos clínicos importantes de estas drogas.”

Asimismo, Mara Barreto dicta “el ácido gamma-aminobutírico (GABA) es el neuro transmisor inhibitorio más importante del sistema nervioso central (SNC). Actúa sobre receptores específicos denominados GABA A, B y C.”

Observamos que los receptores son enumerados en tres tipos, donde los neurotransmisores GABA producen efectos al sucederse con las Benzodiazepinas. Sin embargo, dichos receptores al ser denominados en tres tipos cumplen diversas funciones.

El GABA<sub>A</sub>, situado a nivel postsináptico, es un receptor ionotrópico dado que contiene un canal de cloro conformado por 5 subunidades.

Si bien existen múltiples combinaciones posibles de estas subunidades, la más frecuente es 2 a- 2b-1g. Al unirse el GABA a su sitio de acción específico se produce la apertura de dicho canal, con la consiguiente entrada de cloro a la célula e hiperpolarización de la misma, dando como resultado un efecto inhibitorio.

Los receptores GABA A se ubican en el Sistema Nervioso Central. Son postsinápticos, y son localizados tanto en las dendritas, como en el cuerpo y en los axones de las neuronas. Los receptores GABA A son estructuras que conforman un canal de cloro (ionoforo de cloro). El neurotransmisor GABA, que tiene función de agonista al unirse con el receptor GABA A, produce una apertura del canal iónico con un aumento del pasaje de cloro hacia la célula. Esto produce una hiperpolarización del interior celular lo que disminuye la excitabilidad de la célula, y así se inhibe su descarga eléctrica.

El receptor GABA A es un complejo macromolecular conformado por sitios de unión específicos para varios ligandos, su agonista GABA y moduladores alostéricos tales como Benzodiazepinas, barbitúricos y esteroides. Las Benzodiazepinas actúan solamente sobre los receptores GABA<sub>A</sub> que tienen presente la subunidad  $\gamma$ .

Se han reconocido 3 subtipos de receptores para Benzodiazepinas que se diferencian en su estructura, ubicación y afinidad de ligando.

- **BZ1:** poseen alta afinidad por el zolpidem y se hallan con amplia densidad en cerebelo, corteza cerebral, hipocampo y células cromafines de la glándula suprarrenal.
- **BZ2:** poseen alta afinidad por Benzodiazepinas y se ubican primordialmente en la médula espinal, corteza cerebral, hipocampo y células cromafines de la glándula suprarrenal.
- **BZ3:** poseen alta afinidad por BZD y no se hallan relacionados al receptor GABA A. se ubican en el hígado, el riñón, los testículos y la suprarrenal. A nivel del Sistema Nervioso Central se ubican en la membrana mitocondriales y se cree que estaría involucrado en el efecto hipnótico y sedante de esteroides neuro activos.

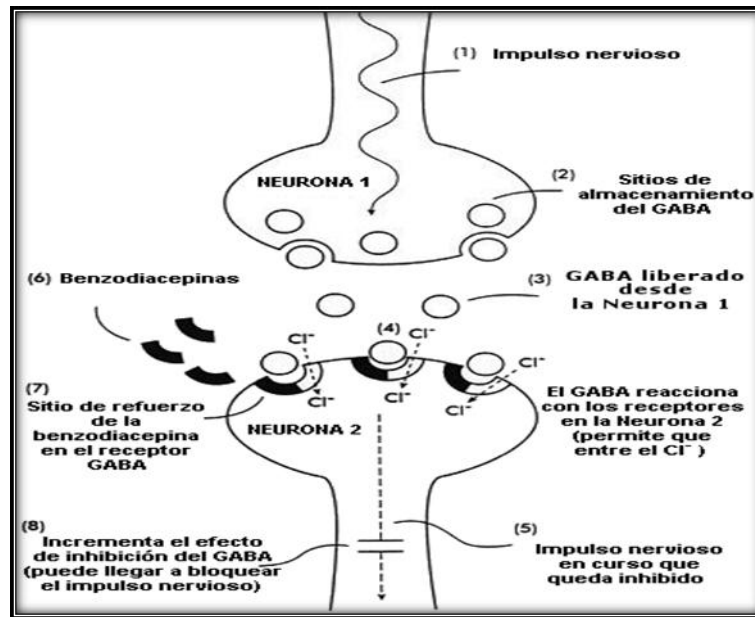


Figura 2. Mecanismo de acción de las Benzodiazepinas

## F. Características farmacocinéticas

Las BZD poseen similitudes según el mecanismo de acción, y los efectos; algunas en mayores niveles que otras. Sin embargo varían de acuerdo a las características farmacocinéticas. Son estas diferencias las que hacen que cada BZD sea elegida de otras BZD. Conocer entonces la farmacocinética de las BZD tiene una relevancia clínica.

### a. Absorción

Hernán Martínez comenta, “La absorción de las BZD es distinto de acuerdo a cada molécula sin embargo, el tiempo que tardara en absorberse una BZD es distinta a otra. Por ello el tiempo de absorción dará la velocidad de inicio de la acción. Asimismo la vía oral es la más utilizada ya que presente un buen nivel de absorción.”

### b. Distribución

Las Benzodiazepinas responden a una cinética bicompartimental. Al momento de ingresar la BZD al organismo esta se distribuye por el plasma y

otros tejidos bien perfundidos como el SNC donde enlazan concentraciones similares a las del plasma, buscando un equilibrio de concentración.

Una vez que entran en los vasos sanguíneos y, como las Benzodiazepinas son muy liposolubles, necesitan ser transportadas por las proteínas plasmáticas, a las que se unen en una proporción importante. La distribución de las Benzodiazepinas es amplia, por lo cual llegan a la mayor parte del cuerpo.

### **c. Metabolismo**

El metabolismo generado por las BZD es a través del sistema microsomal hepático lugar donde se encuentran los procesos de desmetilación e hidroxilación formando productos farmacológicamente activos. Procesos que a su vez, son posteriormente enlazados con ácido glucurónico formando metabolitos más hidrosolubles, que son inactivos desde el punto de vista farmacodinámico que son excretados o expulsados mediante la orina.

## **G. Acciones farmacológicas**

### **a. Acción ansiolítica**

Las BZD se suministran o prescriben en cuadros de ansiedad, de estrés, tensión nerviosa y aprehensión. Serían de fácil dependencia física es por ello que se utilizan o deberían de utilizarse por periodos cortos. Siendo que la acción ansiolítica de las BZD tiene un efecto en los receptores del sistema límbico y del área gris del sistema central. Potencia la inhibición y la actividad de las neuronas que se ven activadas en situaciones de ansiedad o de temor. Las BZD que presentan estos efectos ansiolíticos son: Alprazolam, Bromazepam, Clonazepam, Diazepam y el Lorazepam.

### **b. Acción Hipnóticos**

Las BZD como fármacos tienen efectos sedativos e hipnóticos. Dichos efectos se desarrollan por activación de los receptores benzodiazepínicos localizados en área gris reticular del mesencéfalo. La prescripción debe ser

breve, tratando de evitar la dependencia y la tolerancia. Las BZD de acciones hipnóticas son: Flurazepam, Flunitrazepam, Midazolam, Nitrazepam.

### **c. Miorrelajante**

Las BZD producen una acción miorrelajante, que quiere decir que es un medicamento o fármaco que actúa sobre los músculos reduciendo su tonicidad ello sin afectar su locomoción normal. Nos dice Virginia Labrea que “el efecto miorrelajante es central por depresión de circuitos poli sinápticos en áreas supra espinales. El efecto miorrelajante puede producir disartria por relajación de los músculos de la lengua. El efecto miorrelajante es de utilidad en el estado epiléptico, este efecto desarrolla rápida tolerancia.”

### **d. Anticonvulsivante**

La característica fundamental de la BZD es de anticonvulsivante el clonazepam es el fármaco indicado que se utiliza para en el tratamiento crónico de esta patología. El clonazepam como BZD indicada es un antiepiléptico de amplio espectro, sin embargo puede presentar contraindicaciones si se utiliza en tratamientos prolongados desarrollando tolerancia a los efectos anticonvulsivantes, al letargo, la fatiga, el sueño, la incoordinación muscular, la ataxia, la perturbación de la conducta, por ello no se puede suspender abruptamente.

### **e. Orexigena**

Las BZD al ingerirse producen aumento del apetito al darse la activación de los receptores del hipotálamo pertenecientes al sistema límbico. En base a esta reacción de las BZD puede generarse un incremento del peso corporal.

## **H. Interacciones medicamentosas**

La mayoría de las interacciones con consecuencias significativas tienen como resultado el aumento o disminución del efecto farmacológico de la

benzodiacepina y/o del medicamento con el que interacciona. Son conocidas las interacciones con fármacos depresores del SNC (antihistamínicos H1, antidepresivos, neurolépticos, anticonvulsivantes, antihistamínicos, otros hipnóticos y ansiolíticos, etc.) que pueden aumentar sus efectos sedantes, pudiendo traer consecuencias desfavorables.

Los medicamentos que pueden tener reacciones adversas y/o desfavorables clínicamente con las BZD, son los siguientes.

- Olanzapina (si es suministrada por vía parenteral) y clozapina.
- Ácido fusídico.
- Inhibidores de la proteasa (ataza-navir, darunavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, rito-navir, saquinavir, tipranavir).
- Ketoconazole itraconazol.
- Buprenorfina, metadona y tapen-tadol.
- Antibióticos macrólidos (claritro-micina, eritromicina, telitromicina).
- Inductores potentes del CYP 3A4 (carbamazepina, fenitoína, dexametasona).

## **I. Reacciones adversas**

Las Benzodiazepinas como fármacos pueden generar efectos o reacciones adversas a las esperadas. Dichos efectos pueden generar desequilibrios cuando están bajo el suministro de dicho fármaco.

Al respecto nos dice Carrión Bolaños que “todas las Benzodiazepinas son ansiolíticos a dosis bajas e hipnóticos a dosis altas. Sin embargo pueden establecerse diferencias para la utilización de una u otra con índole farmacocinética. El problema principal que podrían presentar las BZD prescritas como de acción corta es que pueden generar una acumulación en el organismo cuando se administran de forma continua, trayendo consigo consecuencias de sedación residual excesiva, con probabilidades para los pacientes de sufrir accidentes de tipo doméstico, laboral o de circulación terrestre. A diferencia de

las BZD de acción larga que se manifiestan en grado mínimo los efectos derivados de la privación o retirada (insomnio de rebote, ansiedad, etc.)”.

Producto de la administración de BZD podemos ver efectos indeseables que podrían ocurrir bajo el uso de BZD los cuales incluyen: somnolencia, sedación, ataxia, disartria además de estas se tienen la disminución de habilidades psicomotoras, confusión por parte del sujeto, astenia muscular, amnesia anterógrada, vértigo malestar estomacal, visión borrosa; añadidos a estos se observan dolor de cabeza, depresión, trastornos de la coordinación y del ritmo cardíaco.

#### **J. Sobredosis**

Al producirse la dosis excesiva se diagnostica depresión del SNC, esto generado por los efectos inhibidores del neurotransmisor. Las BZD producen ataxia, letargo y habla farfullante. Aunque se ha observado que la sobredosis por medio de la vía oral tiende a ser moderada. Otras manifestaciones clínicas de sobredosis incluyen hipotermia, hipotensión y bradicardia (ritmo cardíaco lento).

Al observarse sobredosis por parte de las BZD se tiene un proceder básico mediante un antídoto específico que es el Flumazenil: este fármaco es un tipo de antagonista que va actuar en el receptor impidiendo así que actúen las BZD. La duración de vida media es corta del Flumazenil, en tal sentido que la reversión de los efectos dura 45-60 minutos, transcurrido el tiempo se vuelven a los efectos de sedación. Este fármaco es muy útil, pero, no por ello debe utilizarse indiscriminadamente sino, debe de usarse con cautela y precaución, ya que posee diversas contraindicaciones o al observarse que exista riesgos de convulsiones.

#### **K. Toxicología de las Benzodiazepinas**

Como mecanismo de toxicidad de las BZD, se intenta potencializar la acción inhibitoria del neurotransmisor GABA, tratando de favorecer el ingreso de iones

de cloro a la célula, ocasionando la hiperpolarización celular para así disminuir la excitabilidad neuronal.

Las BZD pueden generar un nivel muy alta de toxicidad, no obstante, se han pormenorizado ingestiones de Diazepam de 15 – 20 veces sobre la dosis terapéutica y sin haberse presentado deterioro o disminución importante de la conciencia; sin embargo, por medio de la administración intravenosa se produce una acción rápida, aun en dosis terapéuticas, la cual podría inducir a un paro respiratorio, posiblemente debido al vehículo de la ampollita (propilenglicol).

#### **L. Dependencia y tolerancia**

En términos simples la Tolerancia es aquella por la que se da un aumento progresivo por aumento de la dosis para conseguir el mismo efecto. Nos dice Mirna Linares que “Bajo esta administración se desarrolla rápidamente la tolerancia al efecto hipnótico y más lentamente al efecto ansiolítico”. Generalmente se presenta tiempo después del consumo prolongado de altas dosis de una determinada benzodiazepina, esto se traduce en un síndrome de abstinencia al dejar de tomarlas. Los síntomas de abstinencia, aparecen de dos a cinco días de la supresión farmacológica.

Ante la dependencia y tolerancia el cuadro se caracteriza por:

- Como síndrome mayor tenemos cuadros de delirio, alucinaciones por parte del sujeto, confusiones y convulsiones. Otros síntomas psicológicos de factor dependiente es la ansiedad; el insomnio, la irritabilidad y la disforia.
- Como síndrome menor encontramos síntomas somáticos de ansiedad; temblor, palpitations, vértigo, sudoración, espasmos musculares, intestino irritable hiperventilación. Otras características también importantes son los trastornos de la percepción; la intolerancia al ruido la intolerancia a la luz, la sensación de movimiento, el sabor metálico. Para que sea posible este aumento o aparición del síndrome de abstinencia es que se provea un aumento con la dosis y la duración del tratamiento.



### 1.6.2.2. Cromatografía en capa fina

#### A. Definición

La técnica cromatográfica en capa fina en adelante CCF es aquella en la cual se realiza la preparación de un absorbente la cual utiliza una placa inmersa verticalmente. Manteniéndose unida a otra placa de vidrio o soporte. “Mediante esta técnica observamos que existen dos fases la primera que es la fase móvil o líquida y la otra que es la fase estacionaria, que consiste en un sólido.”

#### B. Fundamento

Mediante la cromatografía en capa fina podemos:

- Obtener o conocer el nivel o grado de pureza de un determinado compuesto, por ejemplo, obtener la efectividad de una etapa de purificación.
- Comparar diversas muestras, entendiéndose que si dos muestras recorren igual en placa podría decirse que son idénticas. Pero por el contrario se ve diferencias en el recorrer de las muestra entonces, se infiere que no son la misma sustancia.
- Mediante la CCF se puede saber o controlar el recorrido y seguimiento de una reacción. Esto se debe a que es posible estudiar cómo se disgregan los reactivos y cómo aparecen los productos finales o, lo que es lo mismo, saber cuándo la reacción ha acabado.
- Mediante la CCF el tiempo el cual se emplea para obtener separaciones es menor, en cuanto a la separación el procedimiento es mejor.
- Con la CCF se pueden usar: reveladores corrosivos, distinguiendo que si se usaran sobre papel el papel podría destruirse el cromatograma. Se desarrolla con un método simple obteniéndose resultados que son fácilmente reproducibles, ello hace que la CCF sea un método adecuado para fines analíticos.

### **C. Aplicación de la muestra**

De acuerdo a la naturaleza del producto a examinar se procederá a disolver el producto, mediante un disolvente orgánico que posea cierto punto de ebullición suficientemente bajo para que pueda evaporarse seguidamente de la aplicación, el disolvente o producto más común de usar es la acetona. Con frecuencia se utilizan disoluciones al 1%, con el propósito de aplicar 2 ml que resulta en la carga 20 mg de producto sólido. Diversos reactivos empleados para el revelado llegan a detectar 0,1 mg de material; es en base a este proceder que se puede llegar a obtener un 5% de impurezas.

El mercado ofrece una amplia variedad de instrumentos como micro pipetas o micro jeringuillas estos instrumentos facilitan el proceso de siembra de la muestra a analizar. Opcionalmente pueden utilizarse otros instrumentos como los tubos capilares.

Para el proceso de siembra se procede tocando con la punta del capilar (micro pipeta) sobre la placa preparada. Dejando una distancia al borde inferior de un centímetro aproximadamente. Al punto de aplicación de la muestra se le denomina toque. Entonces una vez realizado el toque se deja secar para evaporar el disolvente, de forma que en la placa solo quedará la muestra a analizar.

### **D. Reveladores más comunes**

- Luz UV: si la sustancia absorbe luz ultravioleta, se puede usar una fase estacionaria impregnada con un indicador fluorescente ( $F_{25a}$  ó  $F_{366}$ ), el número que aparece como subíndice nos indica la longitud de onda de excitación del indicador utilizado.
- El rocío con una solución de agua/ $H_2SO_4$  1:1 (dentro de un compartimiento especialmente protegido y bajo una campana de extracción de gases). Después calentar intensamente, por ejemplo, con un mechero, hasta carbonizar los compuestos.

## **E. Elección de adsorbente**

Los dos adsorbentes (fase estacionaria) más ampliamente utilizados son la gel de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) y la alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), ambas de carácter polar. La alúmina anhidra es el más activo de los dos, es decir, es el que retiene con más fuerza a los compuestos; por ello se utiliza para separar compuestos relativamente apolares (hidrocarburos, haluros de alquilo, éteres, aldehídos y cetonas). El gel de sílice, por el contrario, se utiliza para separar sustancias más polares (alcoholes, aminas, ácidos carboxílicos).

El proceso de adsorción se debe a interacciones intermoleculares de tipo dipolo-dipolo o enlaces de hidrógeno entre el soluto y el adsorbente. El adsorbente debe ser inerte con las sustancias a analizar y no actuar como catalizador en reacciones de descomposición. El adsorbente interacciona con las sustancias mediante interacción dipolo-dipolo o mediante enlace de hidrógeno si lo presentan.

Algunos de los adsorbentes más utilizados son: Celulosa, almidón, azúcares, gel de sílice (silicagel), óxido de aluminio (alúmina) y Carbón activo (carbón en polvo). Los tres primeros se utilizan para extraer componentes polifuncionales de plantas y animales.

## **F. Elección de eluyente**

La elección del eluyente depende del componente que se va a separar y del material en que la separación se lleva a cabo. Un método que se emplea para la selección del eluyente es una cromatografía en capa fina con distintos disolventes y unas muestras patrón.

Principales eluyentes en orden creciente de polaridad: Eter de petróleo, eter dietílico, ciclohexano, tetracloruro de carbono, acetato de etilo, piridina. Cloroformo, diclorometano, benceno, etanol, metanol, agua y ácido acético.

## **G. Desarrollo de la cromatografía**

El desarrollo de los cromatogramas en capa fina se realiza normalmente por el método ascendente, esto es, al permitir que un eluyente ascienda por una placa casi en vertical, por la acción de la capilaridad. La cromatografía se realiza en una cubeta. Para conseguir la máxima saturación posible de la atmósfera de la cámara, las paredes se impregnan del eluyente.

Generalmente el eluyente se introduce en la cámara una hora antes del desarrollo, para permitir la saturación de la atmósfera. El tiempo de desarrollo, por lo general, no llega a los 30 minutos. El tiempo de una cromatografía cualitativa suele ser de un par de minutos, mientras que el tiempo de una cromatografía preparativa puede llegar a un par de horas.

Las placas pueden desarrollarse durante un tiempo prefijado, o hasta que se alcance una línea dibujada a una distancia fija desde el origen. Esto se hace para estandarizar los valores de RF. Frecuentemente esta distancia es de 10 cm, ya que parece ser la más conveniente para medir valores de RF.

La mejor posición de desarrollo para un componente es el punto medio entre el origen y el frente del eluyente, ya que permite separar las impurezas que se desplazan con mayor y menor velocidad. El frente del eluyente nunca debe llegar a tocar el borde de la placa.

## **H. Localización de sustancias**

Si los compuestos separados no son coloreados es necesario revelar la posición de dichos compuestos, para ello existen dos tipos de métodos:

### **a. Métodos químicos**

Consisten en realizar una reacción química entre un reactivo revelador y los componentes separados, para ello se aplica un nebulizado sobre la placa con los reactivos reveladores. Generalmente se utiliza como reactivo revelador yodo,

el cual forma complejos coloreados, con los componentes orgánicos (con tonos amarillo-marrón).

Asimismo, existe otro reactivo revelador bastante utilizado, es el ácido sulfúrico, que reacciona con los componentes orgánicos, produciendo manchas negras. También, es utilizado el permanganato potásico, que deja unas manchas de color amarillo. El tamaño de las manchas, no está relacionado con la cantidad de componente separado.

### **b. Métodos físicos**

El más común consiste en añadir al absorbente un indicador fluorescente. De tal forma que, al colocar la placa bajo una lámpara ultravioleta, y dependiendo del indicador y de la longitud de onda, aparecen manchas fluorescentes en las zonas en las que hay componentes, o en otros casos aparece toda la placa fluorescente excepto donde hay componentes.

Algunos compuestos poseen cierta fluorescencia (aunque no es normal) con lo que pueden ser detectados directamente en una lámpara de ultravioleta.

## **2. Reactivo dragendorff**

### **1. Definición**

Es un reactivo de color para detectar alcaloides en una muestra de prueba. Los alcaloides, si están presentes en la solución de la muestra, reaccionarán con el reactivo de Dragendorff y producirán un precipitado rojo anaranjado o naranja. Este reactivo fue inventado por el farmacólogo alemán Johann Georg Dragendorff (1836-1898) en la Universidad de Dorpat.

### **2. Composición**

El reactivo de Dragendorff es una solución de yoduro potásico de bismuto preparado a partir de nitrato básico de bismuto ( $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ )<sub>1</sub> ácido tartárico y yoduro de potasio (KI).

## **CAPITULO II**

### **MÉTODO**

#### **2.1 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

El método empleado está básicamente designado por la Cromatografía de capa fina, sin embargo, la causa más probable de hallar los resultados de la investigación fue en cuanto al revelado por medio del uso del Reactivo Dragendorff.

Asimismo dichos métodos son de uso básico y cotidiano en la Ciencia Químico Farmacéutica, es por ello que dichos métodos fueron esenciales para obtener resultados confiables y válidos para el objetivo general de la investigación. Sin embargo el método para hallar falsos positivos se da mediante los métodos Diagnósticos o también como pruebas diagnósticas, dichos diagnósticos se expresan en cuatro índices los cuales se obtienen a partir del análisis de un grupo a los que se les realiza una prueba diagnóstica.

## 2.2 TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

De acuerdo al tipo de investigación se realizó: Estudio básico,

Según el tiempo de estudio: Transversal.

El nivel de Investigación se dio en Descriptivo.

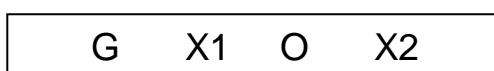
## 2.3 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Se realizó bajo los lineamientos del Diseño Pre Experimental en la cual se administró un estímulo o tratamiento a un grupo y demuestra aplicar una medición en una o más variables para observar cual es el nivel del grupo de estas variables.<sup>30</sup>

En ese sentido se realizó el tratamiento o dosificación de las muestras biológicas mediante una dosis controlada y en intervalos de tiempo de acuerdo al promedio de vida del fármaco a dosificar.

Controlando las variables que son peso, talla, edad y aclimatación, en función a dichas variables se aplicó el diseño sobre el cual se estratifico la investigación.

Diseño:



Donde:

G : Grupo de estudio

O : Medición de los resultados de aplicar X

X1 y X2 : Aplicación o manipulación la variable independiente

## 2.4 POBLACIÓN

Se utilizó: ratas albinas de raza Whister adquiridas en la facultad de Veterinaria de la U.N.M.S.M

## **2.5 MUESTRA**

Para la investigación se utilizó 7 (siete) muestras biológicas de Ratas albinas de raza Whistar elegidos al azar.

Se realizó el tipo de muestreo no probabilístico

## **2.6 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

Tabla

Técnica Cromatografía

Instrumento Reactivo Draguendorff

Instrumento

## **2.7 Procesamiento de Datos**

Se utilizó el Software SPSS para determinar la Media y la Desviación Estándar de los datos obtenidas con el fin de establecer homogeneidad en las variables intervinientes en la investigación. Siendo así que la desviación estándar se generó para el control normal de la variable peso, y por ende la media que establece el control en los datos del grupo a investigar.

Además, el procesamiento de datos se dio mediante el cálculo del método aplicado a los falsos positivos, y así se verificó la hipótesis planteada en el plan de tesis.



## **CAPÍTULO III**

### **RESULTADOS**

#### **Del procedimiento**

Se sometió 7 muestras biológicas – ratas albinas de raza Whister - al control de laboratorio, en ellas se realizó la división en dos grupos, siendo estas un grupo de control y el otro, un grupo experimental.

En las muestras biológicas se identificaron las variables como peso, talla, sexo, edad, aclimatación. (ver cuadro 1)

La pre-experimentación consto en dosificar a las muestras biológicas con fármacos determinados para hallar resultados que serán evaluadas en el capítulo correspondiente.

La aclimatación comenzó a las 9 horas del día 18 de Agosto de 2017 donde se dio la preparación de soluciones como: el estándar. Seguidamente se procedió a identificar las variables: peso, talla, sexo, edad y sus respectivos valores adquiridos mediante los instrumentos empleados en el laboratorio como la balanza, el centímetro.

También se tuvo en consideración el pesaje de reactivos y material biológico, el rotulado de frascos de experimentación como la filtración de medicamentos sólidos.

Los grupos fueron sometidos al proceso de aclimatación en el periodo de 3 días, para poder obtener los resultados hipotetizados.

### Hoja de Recolección de Datos de Variables Continuos

Cuadro 2

Items Muestra	Peso (gr)	Talla (cm)	Sexo (M –H)	Edad (meses)	Aclimatación (días)
M1	285.8	47,6	M	4	3 días
M2	287.9	46,8	M	4	3 días
M3	295.3	48,5	M	4	3 días
M4	280.7	47,7	M	4	3 días
M5	279.3	46,9	M	4	3 días
M6	291.8	48,3	M	4	3 días
M7	283.9	47,6	M	4	3 días

Fuente: elaboración propia, Setiembre 2017

### DEL MÉTODO

El proceso de inducción constó en dosificar a las muestras biológicas vía oral de acuerdo a la dosis establecida para cada fármaco; al establecerse tres días de aclimatación el proceso de inducción consto en controlar y medir las variables para obtener datos exactos en la pre-experimentación.

De los fármacos seleccionados tenemos: Metamizol, Doxiciclina, SMT/TMP, Celecicib, Ibuprofeno, Metronidazol y Alprazolam; cada dosificación presento una variación en mg/kg de acuerdo al tipo de fármaco que se indujo a la muestra. (ver cuadro 2).

Los periodos de cada inducción fueron establecidos en el tiempo de 8 horas, 12 horas y 24 horas según el tipo de fármaco. cada una. (ver cuadro 2).

### Tiempo de Vida Media de Fármaco vs Dosis

**Cuadro 3**

Muestra	Fármaco	Dosis	Tiempo
M1	Metamizol	12.5 mg/kg	Cada 8 horas
M2	Doxiciclina	4 mg/kg	Cada 12 horas
M3	SMT/TMP	4.5 mg/kg	Cada 12 horas
M4	Celecocib	0.5 mg/kg	Cada 12 horas
M5	Ibuprofeno	5 mg/kg	Cada 24 horas
M6	Metronidazol	7.5 mg/kg	Cada 12 horas
M7	Alprazolam	5 mg/kg	Cada 24 horas

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

En las variables observadas como el peso, talla, edad; se procedió a analizar los datos antes de la primera inducción para poder entender los datos a analizar; mediante la desviación estándar y la media estadística así tenemos que:

### Variables Continuas y Cálculo de Medida de Tendencia Central

**Cuadro 4**

#### Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Peso ratón	7	279,3	295,3	286,386	5,7754
talla ratón	7	46,8	48,5	47,657	,6399
edad ratón meses	7	4	4	4,00	,000
N válido (por lista)	7				

Fuente: Elaboración Propia, Setiembre 2017

La desviación estándar se da en 5,7754 que quiere decir que se da el 5% de variabilidad en cuanto al peso de las muestras biológicas medidas y con ello se entiende que las muestras están homogéneas o no existe diferencias marcadas en la variable peso para proceder en la pre-experimentación. Y de la misma manera sucede con la variable talla las cual se encuentra en el 1% en cuanto a la desviación estándar.

De fecha 19 de Agosto del 2017, a las 7 horas, se realizó la primera inducción de medicamentos en las muestras biológicas, teniendo en consideración el tipo de fármaco a suministrar se dejó reposar a las muestras en un tiempo estimado de 1 horas, sin ningún tipo de ruidos o molestias para proceder a medir nuevamente las variables.

Tiempo que fue estimado para la absorción del fármaco y para la realización de observaciones o reacciones diversas que presentarían las muestras al administrárseles las dosis correspondientes.

Así, las muestras biológicas presentaron observaciones al administrárseles los fármacos seleccionados.

Se observó que la muestra M2 a la cual se le administro Doxiciclina en dosis de 4 mg/kg cada 12 horas, presentó sintomatología. La muestra M7 a la cual se le administró Alprazolam en dosis de 5 mg/kg presentó hipotensión y secreción ocular. Asimismo, la muestra M7 aumentó el tiempo de sueño.

De fecha 19 de Agosto del 2017 a las 14 horas con 30 minutos se procedió a medir las variables como peso, talla, sexo y edad. Con el fin de realizarse la 2 inducción.

Se consideraron nuevamente las variables como Peso, Talla, Sexo, Edad, Aclimatación y las dosis a inducir por cada fármaco. (ver cuadro 3), observando que dichas variables presenten o no cambios o variaciones. Con ello se obtuvo:

## Hoja de Recolección de Datos Variables Continuas vs Tiempo de Aclimatación

**Cuadro 5**

Ítems Muestra	Peso (gr)	Talla (cm)	Sexo (M –H)	Edad (meses)	Aclimatación (días)	Dosis (mg/Kg)
M1	285,8	47,4	M	4 meses	3 días	12,5 mg/kg
M2	287,9	46,8	M	4 meses	3 días	4 mg/kg
M3	295,5	48,5	M	4 meses	3 días	4.5 mg/kg
M4	280,9	47,7	M	4 meses	3 días	0.5 mg/kg
M5	280,1	46,9	M	4 meses	3 días	5 mg/kg
M6	291,9	48,3	M	4 meses	3 días	7.5 mg/kg
M7	283,9	47,8	M	4 meses	3 días	5 mg/kg

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

Ante la medición obtenida verificamos la desviación estándar de las variables peso, y talla para tener en cuenta las variaciones que se presentaron, tenemos así:

### Medida de Tendencia Central, Peso y Talla

**Cuadro 6**

#### Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Peso_2	7	283,1	298,1	288,286	5,5673
Talla_2	7	46,8	48,5	47,657	,6399
N válido (por lista)	7				

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

Entonces el control del dosificación que fue establecida por horas se dio de acuerdo al fármaco y a la muestra seleccionada. Entonces la M1 sometida a la

dosificación de Metamizol se controló cada 8 horas siendo que a las 15 horas se controló el peso, y la talla de la muestra M1.

Asimismo, las muestras M2, M3, M4 y M6 son controladas en las 12 horas con los fármacos como Doxiciclina, SMT/TMP, Celecoxib y Metronidazol; las muestras M5 y M7 fueron controladas a las 24 horas derivadas con los fármacos Ibuprofeno y Alprazolam.

Con ello de fecha 20 de Agosto del 2017 a las 7 horas con 00 minutos se indujo a las muestras M5 y M7 a la 2da dosificación correspondiente, dándose que a las 09 horas de la misma fecha se observaron sintomatología; donde la muestra M7 presentó deshidratación; manteniendo su peso, pero, se presentó aislado del resto del grupo, presentando muecas y lanzando gritos. Las demás muestras presentaron aumento de peso, al medirse nuevamente las variables.

Sin embargo, la muestra M5 a la cual se le administró ibuprofeno en cantidad de 5 mg/kg presentó deposiciones sangrientas y dolor, a la vez se le observó desvaríos en la orientación. Con ello se generó un ajuste en la dosificación.

A las 13 horas con 00 minutos se procedió a realizar los cálculos de dosificación y ajuste de curvas; se tuvo en cuenta la preparación de soluciones rotulado de frascos para vísceras, sangre y reactivos a usar en la prueba del día 21 del presente.

A las 18 horas con 30 minutos, en el paso de observación de las muestras se observó que la M7 presentaba dolor, desorientación, letargia, salivación, sed.

La muestra M4 presentó deposiciones sangrientas.

La muestra biológica M5 respondió correctamente al ajuste de dosis.

Las muestras biológicas M1, M2, y M5 no presentaron sintomatología apreciable. La muestra M6 presentó confusión letargia y daño neurálgico.

Se procedió a realizar el cálculo de dosis, calculo fisicoquímico, los ajustes de entropía y la limpieza de laboratorio.

De fecha 21 de Agosto del 207 a las 9 horas con 00 minutos se procedió a medir a las muestras en cuanto al peso, talla, obteniendo que la variable talla no a variado pero si la variable peso. (ver cuadro 4)

### Recolección de Datos

Cuadro 7

Ítems Muestra	Peso (gr)	Talla (cm)	Sexo (M– H)	Edad (meses)	Aclimatación (días)	Dosis (mg/Kg)
M1	288.3	47,4	M	4 meses	3 días	12,5 mg/kg
M2	289.1	46,8	M	4 meses	3 días	4 mg/kg
M3	298.3	48,5	M	4 meses	3 días	4.5 mg/kg
M4	285.9	47,7	M	4 meses	3 días	0.5 mg/kg
M5	283.7	46,9	M	4 meses	3 días	5 mg/kg
M6	291.5	48,3	M	4 meses	3 días	7.5 mg/kg
M7	283.9	47,8	M	4 meses	3 días	5 mg/kg

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

Los valores en cuanto a la variable Peso han sufrido cambios en el aumento, consecuente de la administración oral de los fármacos; las otras variables no sufrieron cambios por lo tanto se mantienen y no fue necesaria la aplicación de un procedimiento estadístico. Tenemos así:

### Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Peso_3	7	283,7	298,3	288,671	5,1022
Talla_3	7	46,8	48,5	47,657	,6399
N válido (por lista)	7				

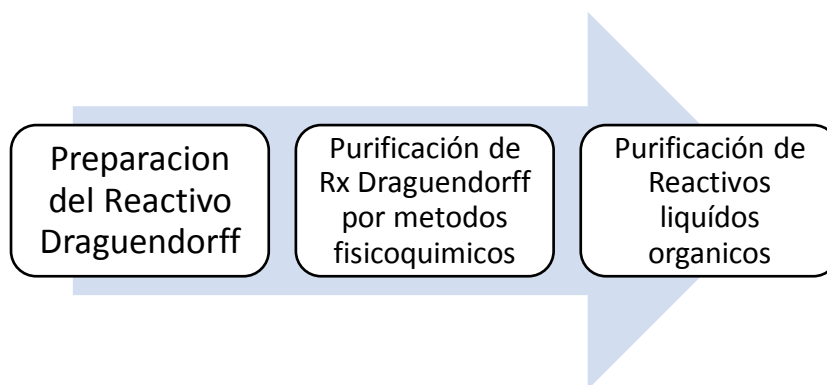
Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

Al procederse la investigación se observó que la muestra M7 conserva su peso, pero presenta cada vez más letargia, desorientación, dolor, sed, muecas, descoordinación, gritos.

La muestra M5 presentó dolor, muecas, sed y deposiciones sanguinolentas.

Ya con las últimas anotaciones y observaciones a las muestras biológicas se procedió a preparar el reactivo draguendorff.

### Preparación de Rx Draguendorff



Una vez elaborado la preparación del reactivo draguendorff se procedió a seleccionar a las muestras mediante el rotulado donde se colocó una cinta de color blanca adhesiva que fue escrita con indeleble negro en la pata derecha de la muestra con numeración sucesiva para facilitar el procesamiento de vísceras y sangre.

Las muestras fueron rotuladas como sigue M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7. Donde el grupo control designado fue el “Blanco” perteneciente al agua bidestilada.

La recolección de muestras se dio a las 16 horas con 20 minutos del 21 de Agosto del 2017, en ello se procedió la extracción de sangre, agregándole oxalato en solución para evitar la coagulación.



Inmediatamente se colocaron las muestras de sangre en los viales. Se usaron goteros y buretas de vidrio, siendo que el volumen sanguíneo se acercó a los 5 mil.

Las fases previas al revelado de muestras se dieron en la fase solida (minerales) y la fase liquida (metabolitos).

A las 20 horas con 00 minutos se procedió a revelar con el reactivo Draguendorff, obteniendo así, el tipo de reacción Rx Negativo y Rx positivo determinantes para la identificación de Benzodiazepinas en muestras biológicas mediante el reactivo de draguendorff en cromatografía de Capa Fina (Ver cuadro 8); donde la Reacción Rx positiva se interpreta con una coloración naranja, considerándose positivas las reacciones que manchan la superficie, intermedio, la parte superior de la placa.

La presentación del Resultado fue en compañía de la Co – Asesor Perito Químico farmacéutico Nancy Pérez Quispe, reportándose, así como Falsos Positivos las muestras M1 administrado con Metamizol, M4 administrado con CelecociB; M5 administrado con Ibuprofeno; M6 administrado con Metronidazol y M7 administrado con Alprazolam.

Por último, se dio la corrección de resultados con el Fotómetro de Revelados.

### Resultados de Falsos Positivos

	BLANCO	ESTÁNDAR	METAMIZOL 500 mg M1	DOXICICLINA 100 mg M2	SMT/TMP 800mg/160 mg M3	CELECOCI B 200 mg M4	IBUPROFENO 800 mg M5	METRONIDAZOL 500 mg M6	DIAZEPAM 10 mg M7
Rx Negativa	-			-	-				
Rx Positiva		+	+			+	+	+	+

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

## **CAPÍTULO IV**

### **ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

La detección de falsos positivos en Benzodiazepinas (para que saber o reconocer falsos positivos) depende del método usado, así como las sustancias analizadas. En este sentido se tiene en consideración los fármacos, sometidos a experimentación en muestras biológicas.

Siendo que los resultados nos en los fármacos como Doxiciclina de 100 mg, SMT/TMP de 800 mg/160 mg dan un resultado negativo. Entendiendo que en estos fármacos conocidos como Antibióticos se dio el resultado de un Falso positivo.

Siendo que a la inversa de los otros fármacos sometidos a experimentación presentaron verdaderos positivos. Es decir que si se identificó la presencia de positivos en los fármacos sometidos a experimentación. Entre estos fármacos tenemos: Metamizol de 500 mg, Celecoxib de 200 mg, Ibuprofeno de 800 mg, Metronidazol de 500 mg, Alprazolam de 0,5 mg.

Tenemos así que mediante el Reactivo Dragendorff se pudo identificar falsos positivos como falsos negativos, teniendo en consideración la siguiente tabla:

### Tipos de Diagnósticos en Identificación de Benzodiazepinas

**Cuadro 9**

Tipos de diagnósticos		Benzodiazepina			
		Ausente		Presente	
Prueba diagnóstica	negativa	<b>Verdadero negativo</b> (diagnóstico negativo Benzodiazepina ausente)	<b>Falso positivo</b> (diagnóstico positivo Benzodiazepina ausente)	<b>Falso negativo</b> (diagnóstico negativo Benzodiazepina presente)	<b>Verdadero positivo</b> (diagnóstico positivo Benzodiazepina presente)
	positiva	<b>Falso negativo</b> (diagnóstico negativo Benzodiazepina ausente)	<b>Verdadero positivo</b> (diagnóstico positivo Benzodiazepina ausente)	<b>Falso positivo</b> (diagnóstico positivo Benzodiazepina presente)	<b>Verdadero negativo</b> (diagnóstico negativo Benzodiazepina presente)

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

Observamos que al realizarse una prueba diagnóstica y obtener como resultado un Rx positivo estamos frente a un resultado positivo, cosa contraria que sucede con los fármacos Doxiciclina y SMT/TMP que presentaron un resultado negativo, esto, por haberse administrado el fármaco a las muestras biológicas y aun así no haber sido revelado mediante la cromatografía de capa fina y el Reactivo Dragendorff. Podemos inducir entonces que en estos resultados positivos y negativos pueden estar los falsos positivos, falsos negativos, verdaderos positivos o verdaderos negativos mediante el sometimiento de las muestras a la cromatografía de capa fina o el Reactivo Dragendorff que pueden ser suficientes o no para identificar falsos positivos o para indicar la prueba diagnóstica.

Asimismo, dentro de los supuestos a los que podemos inducir por la presencia de falsos positivos es, que dichos fármacos son pasibles de reacción a dichas técnicas. Sin embargo para analizar mejor los resultados obtenidos debemos de tener en cuenta que el reactivo draguendorff obtendrá validez siempre y cuando dentro de la composición química del fármaco se dé la presencia del Nitrógeno o de Alcaloides en la estructura de los metabolitos de dichos fármacos.

Identificadas las estructuras de los fármacos clasificados como AINES, antibióticos y Benzodiazepinas se lleva a una diferenciación en lo que debió resultar (sobre un margen real) y lo que no debió de suceder para establecer los Falsos Positivos en la identificación de Benzodiazepinas mediante cromatografía de capa fina y el Reactivo draguendorff.

Para tener una visión más amplia de los fármacos sometidos a experimentación, tenemos dentro de la clasificación a AINES, Antibióticos y Benzodiazepinas.

- Como AINES son: Metamizol de 500 mg, Celecocib de 200 mg e ibuprofeno de 800 mg.
- Como Antibióticos son: SMT/TMP de 800 mg /160 mg y Metronidazol de 500 mg.
- Como Benzodiazepina es: Alprazolam de 0,5 gm.

Guiando el resultado a través del siguiente cuadro:

**Resultados de Falsos Positivos por Muestras Farmacológicas Reacción con el Rx Draguendorff**

**Cuadro 10**

Fármaco/muestra	Resultado Hipotético (Resultado Ideal)	Resultado mediante Cromatografía y reactivo draguendorff	Resultado Final / Real
M1 = AINES	Blanco	Naranja	
M2 = Antibiótico	Naranja	Blanco	
M3 = Antibiótico	Naranja	Blanco	
M4 = AINES	Blanco	Naranja	
M5 = AINES	Blanco	Naranja	
M6 = Antibiótico	Naranja	Naranja	
M7 = Benzodiazepina	Naranja	Naranja	Positivo

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

Interpretando el cuadro líneas arriba tenemos que; el resultado hipotético es aquel resultado que realmente debería de obtenerse para así determinar los Falsos positivos ya que nuestro Objetivo general es: “la determinación de falsos positivos en la identificación de Benzodiazepinas en muestras biológicas mediante cromatografía de capa fina”

Para identificar Benzodiazepinas tenemos que la muestra biológica M7 en aplicación de cromatografía de capa fina y el Reactivo Draguendorff nos resultó naranja, siendo este resultado como guía para la interpretación de las demás muestras. Y así determinar los falsos positivos en los fármacos sometidos a la investigación.

Con ello tenemos que, en la M2, M3 y M6; contrastando además con las estructuras químicas de los fármacos debió obtenerse como resultado: “Positivo”

o Coloración Naranja. Sin embargo, en el resultado obtenido en la experimentación se obtuvo como blanco en M2 y M3, y naranja en M6.

De las muestras M1, M4 y M5 debió de obtenerse el blanco, pero se obtuvo el color naranja con lo que estaríamos alejándonos de nuestro resultado hipotético.

Entonces con las muestras obtenidas podemos inferir que los resultados obtenidos muestran Falsos Positivos y Falsos Negativos en la Identificación de Benzodiazepinas.

El siguiente cuadro muestra los falsos positivos y falsos negativos de acuerdo al Reactivo Draguendorf en las Benzodiazepinas:

### Nomenclatura de Falsos Positivos (F.P) y Negativos (F.N)

**Cuadro 11**

	Benzodiazepinas
Reactivo	M1 = F.P.
Draguendorff	M2 = F.N
	M3 = F.N
	M4 = F.P
	M5 = F.P
	M6 = F.P
	M7 = V.P

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

Hallamos los Falsos Positivos de las muestras obtenidas es decir al obtenerse la Coloración Naranja en la muestra que no debía de obtenerse es que inferimos el Falso Positivo; ya que por las características de cada fármaco sometido a experimentación y por la configuración química de dichos fármacos debió arrojar resultas en base a lo hipotetizado al no arrojar dichos resultados y obteniendo diferenciación es que inferimos los falsos positivos. Que quiere decir que se están dando la presencia o la identificación de Benzodiazepinas al realizarse mediante cromatografía de capa fina y la aplicación del Reactivo Draguendorff.

No obstante, a ello, para calcular los diferentes parámetros en los falsos positivos, se procede a realizar el testeo en base al análisis discriminante de una prueba diagnóstica:

### Determinación de tasas centrales de falsos positivos y negativos

**Cuadro 12**

<b>RESULTADO DE LA PRUEBA</b>	Presencia	Ausencia
Test Positivo	a (verdadero positivo)	B (Falsos Positivos)
Test Negativo	c (Falsos Negativos)	d (Verdaderos Negativos)
Sensibilidad = $a/a+c$ Especificidad = $d/b+d$ VPP = $a/a+b$ VPN = $d/c+d$ Tasa de Fp = $1 - \text{Especificidad}$ Tasa de FN = $1 - \text{Sensibilidad}$		

Fuente: Elaboración Propia, Setiembre 2017

**ANALIZANDO TENEMOS:**

**Determinación de sensibilidad y especificidad en función tasas de falsos positivos y negativos**

**Cuadro 13**

Draguendorff	Benzodiacepina	
	Presente	Ausente
Positivo	5	0
Negativo	2	0

Operacionalizando:

Sensibilidad =  $5/7$  obtenemos 0.7142

Especificidad =  $0/0$  obtenemos 0

Valor Predictivo Positivo =  $5/5$  obtenemos 0

Valor Predictivo Negativo =  $0/2$  obtenemos 0

Así:

Tasa de Falsos Positivos =  $1 - 0$  obtenemos 1

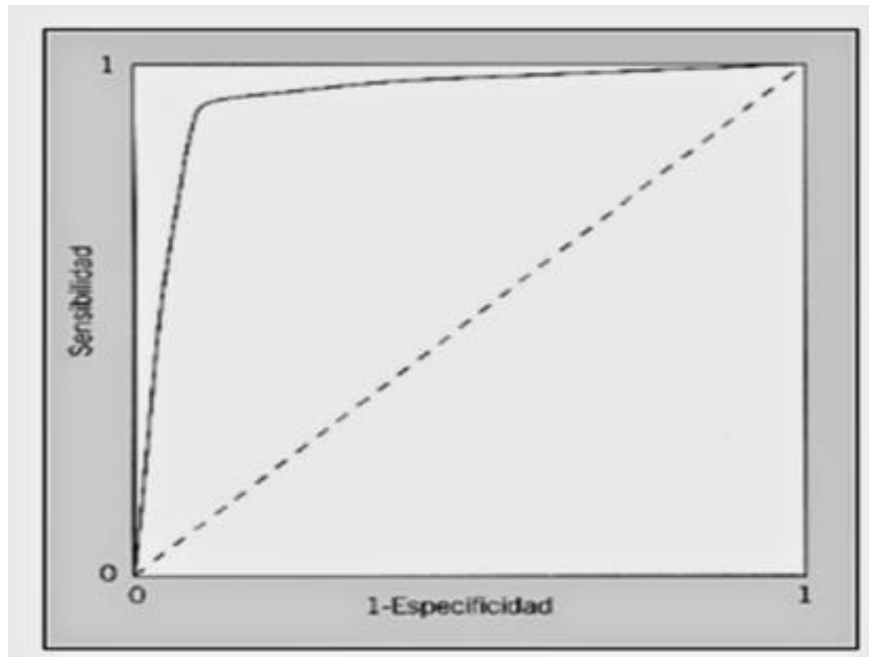
Tasa de Falsos Negativos =  $1 - 0.7142$  obtenemos 0.2858

Interpretando se observa



## Recta de Calibración sensibilidad vs tasas de falsos positivos

Grafico 2



Fuente: Elaboración propia, setiembre 2017

### Hipótesis de la Investigación:

- Existe reactivos falsos positivos en la identificación de Benzodiazepinas en muestras biológicas con el uso de reactivo Dragendorff.

### Por lo tanto:

Si existen Falsos Positivos en la Identificación de Benzodiazepinas en Muestras Biológicas con el uso de Reactivo Dragendorff.

## **CAPITULO V**

### **CONCLUSIONES**

1. Se Determinaron medicamentos que presentan falsos positivos en la identificación de Benzodiazepinas en muestras biológicas mediante cromatografía de capa fina
2. Se identificaron principios activos que reaccionaron positivamente el reactivo Dragendorff en la identificación de Benzodiazepinas en muestras biológicas.
3. Se establecieron los grupos funcionales presentes en cada metabolito activo que inducen falsos positivos con el reactivo Dragendorff.
4. Se demostró la existencia de falsos positivos del reactivo Dragendorff en muestras biológicas usando Benzodiazepinas, Antibióticos y AINES mediante cromatografía de capa fina.

## **CAPITULO VI**

### **RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda realizar investigación para la identificación de falsos positivos de muestras farmacológicas de otros grupos farmacoterapéuticos.
  
2. Se sugiere realizar seguimiento en el punto crítico de evaluación de reactivos grado HPLC para así prevenir la contaminación cruzada de la muestra durante su recolección, procesamiento y revelado en placas cromatografías.
  
3. Se recomienda evaluar la calibración de materiales volumétrico, que deben estar limpios, secos, lavados y desinfectados antes y después del procedimiento de la muestra toxicológica.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Lago M. La energía de microondas aplicada a la preparación de muestras biológicas. Investigación de drogas de abuso y psicofármacos: Resumen (Tesis doctoral). Santiago de Compostela; 2014.
2. Linares M. Identificación de metabolitos de Benzodiazepinas en orina mediante las técnicas de inmunoensayo y gc/ms: Resumen (Tesis de grado). México; 2013.
3. Danza A, Cristiani F, Tamosiunas G. Riesgos asociados al uso de Benzodiazepinas. Revista "Arch Med Interna" 2009; XXXI; 4: 103-107.
4. Domínguez V, Noel M, Speranza N. Perfil epidemiológico de las intoxicaciones por Benzodiazepinas recibidas en el Centro de Información y Asesoramiento Toxicológico Uruguayo en el período 2010-2011. Revista Médica Uruguayo 2015; 31(1):32-38.
5. Acevedo M. Estandarización y validación del método por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masa (GC- MS), para el análisis de tres

Benzodiazepinas y sus metabolitos en muestras biológicas de interés forense en el instituto de medicina legal y ciencias forenses: Resumen (Tesis de grado). Universidad tecnológica de Pereira; 2014.

6. Danza A, Cristiani F, Tamosiunas G. Riesgos asociados al uso de Benzodiazepinas. Revista "Arch Med Interna" 2009; XXXI; 4: 103-107.
7. Riquelme P. Uso de Benzodiazepinas y su relación con la incidencia de reacciones adversas en pacientes adultos mayores de tratamiento crónico ambulatorio en establecimientos dependientes del servicio de salud Valdivia: Tesis (Tesis de grado). Valdivia – Chile; 2008.
8. Pinos N, Inocenti A, Renato C. Consumo de Benzodiazepinas sin prescripción médica en los/as estudiantes de primer año de la escuela de enfermería de la universidad de Guayaquil, Ecuador. Rev Latino - am Enfermagem 2008; mayo-junio: 16.
9. Labrea V. Benzodiazepinas en el embarazo: Resumen (Tesis de grado). Montevideo; 2015.
10. Yates T, Catril P. Tendencias en la utilización de Benzodiazepinas en farmacia privada. Rev Chil Neuro - Psiquiat 2009; 47 (1): 9-15.
11. Ingelmo J, Picarde N, Puppo S. Farmacología II en: Farmacología de Benzodiazepinas, hipnóticos y ansiolíticos no benzodiazepínicos, psicoestimulantes, etanol y neuroactivadores cognitivos (5ta edición). Paraguay: Barreto M; 2003; 23: 155-192.
12. Lopez A, Aroche A, Bestard J, Ocaña N. Uso y abuso de las Benzodiazepinas. Rev. Medisan 2010; 14 (4):555.
13. Longo L. Benzodiazepinas: Riesgos y estrategias para su retirada. Revista ANDAL 2014; 29(2): 32.

14. Galleguillos T, Risco L, Garay J, González M, Vogel M. Tendencia del uso de Benzodiazepinas en una muestra de consultantes en atención primaria. Rev Méd Chile 2003; 131: 535-540.
15. Nogué S, Munné P, Bertrán A, Millá J. Intoxicación aguda por Benzodiazepinas. Indicaciones para el tratamiento con Flumazenil. Revista emergencia 1999; 1(6): 47.
16. Busto U. Factores de riesgo en el abuso y la dependencia a Benzodiazepinas. Revista trastornos Adictivos 2000; 2 (3):177-182.
17. Capitána L, Selfaa M, Méndez M, Franco D. Dependencia a Benzodiazepinas. Revista Trastornos Adictivos. 2009; 11 (2):118-24.
18. Braithwaite, A. Métodos cromatográficos, 4ª ed, ED. Chapman & Hall, Londres, 1985: Páginas 216-217, 271-272.
19. Jorrín J, Abril N, Bárcena J. Separación de aminoácidos por cromatografía en capa fina y detección mediante reacción con ninhidrina. Revista biomolecular 2009; 23(4): 115 – 134.
20. Vogel A, Tatchell A, Furnis B; Hannaford A. Desarrollo de la cromatografía en capa fina. Revista ISBN 2001; 58(2): 36-45.
21. Skoog D, Holler F, Crouch S. Cromatografía en capa fina. Revista análisis instrumental 1997; 57(4): 123 – 135.
22. Khatun A, Rahman M, Jahan S (2014). "Examen preliminar fotoquímico y farmacológico de extracto de hojas de *Murraya exótica* Linn". Revista Farmacia Oriental y Medicina Experimental 2014; 14 (3): 223 - 229.

23. Carrion Bolaños Juan y colaboradores. Actualización en el empleo de Benzodiazepinas en Odontología. *Cient. dent.*, Vol. 4, Núm. 2, Madrid, Agosto 2007. Págs. 115-120.
24. Hernán Martínez Glatti. Benzodiazepinas. Hojas clínicas de Salud Mental. Catedra de Psicofarmacología. Facultad de Psicología. UBA. Argentina.
25. Gámez Lechuga M. Selección de Benzodiazepinas, bases para su utilización en el Hospital. Servicio de Farmacia. Hospital de la Santa i Sant Pau. Barcelona – 1996.
26. Dr. Mynor A. Leiva Enríquez. Neurotransmisores Primeros y Segundos Mensajeros. *Bioquímica Médica Año Dos*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Médicas. Fase 1.
27. Carrión Bolaños Juan y Colaboradores. Actualización en el empleo de Benzodiazepinas en Odontología. Universidad Europea de Madrid. *Cient Dent* 2007;4;2:115-120.
28. Mara Barreto y Colaboradores Juan Inglemo, Nadia Picardi, Soledad Puppó. Farmacología de Benzodiazepinas, hipnóticos y ansiolíticos no benzodiazepínicos, psicoestimulantes, etanol y neuroactivadores cognitivos. *Farmacología II. Grupo de farmacología*. 2003.
29. Diccionario de la lengua española. [citado 2017 mayo 20]. Disponible en URL: <http://www.wordreference.com/dedicion/desnaturalizacion>.
30. Medline Plus enciclopedia médica. [citado 2017 mayo 20]. Disponible en URL: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001325.htm>.
31. Medline PLUS enciclopedia médica. [citado 2017 mayo 20]. Disponible en URL: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001325.htm>.

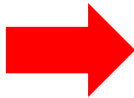
# **ANEXOS**



**ANEXO 1**  
**PROCEDIMIENTO PARA LA ACLIMATACIÓN Y DOSIFICACIÓN DE *rattus norvegicus***  
**“RATAS ALBINAS WISTAR”**



**Aclimatación de Rattus Norvegicus Wistar (por tres días, en jaulas unitarias con sus respectivos datos**



**Pesaje y medición de Rattus Norvegicus Wistar**



**Dosificación de Rattus Norvegicus Wistar con los respectivos medicamentos.**

- Benzodiazepina (diazepam 10 mg)
- SMT/TMP 800 mg-160mg
- Doxiciclina 100 mg
- Metamizol 500 mg
- Ibuprofeno 800 mg
- Metronidazol 500 mg
- Celecoxib 200 mg

Fuente: Elaboración propia, setiembre 2017

**ANEXO 2**  
**MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE BENZODIAZEPINAS POR MUESTRA DE SANGRE: *rattus norvegicus* "RATAS ALBINAS WISTAR"**



**Obtención de muestra (5 mL)**



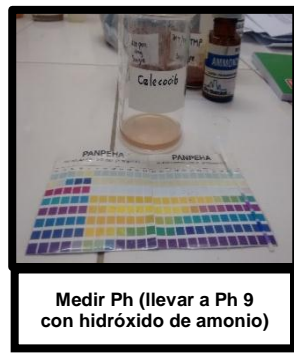
**Agregar desproteinizador (Sulfato de Amonio)**



**Agregar agua destilada y calentar en la estufa**



**Agregar cloroformo (1.1) y concentrar por 30 minutos**



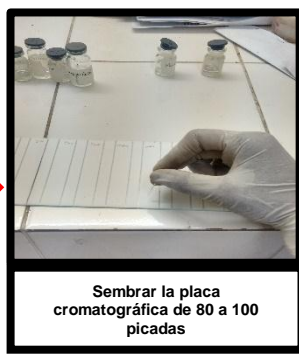
**Medir Ph (llevar a Ph 9 con hidróxido de amonio)**



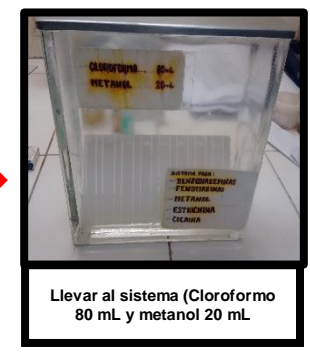
**Filtrar la solución**



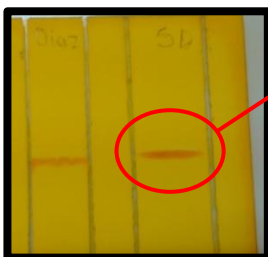
**Concentrar Extractos en la estufa**



**Sembrar la placa cromatográfica de 80 a 100 picadas**

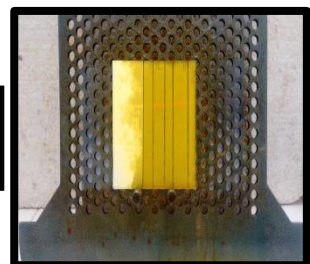


**Llevar al sistema (Cloroformo 80 mL y metanol 20 mL)**



**Rx Positiva mancha color naranja**

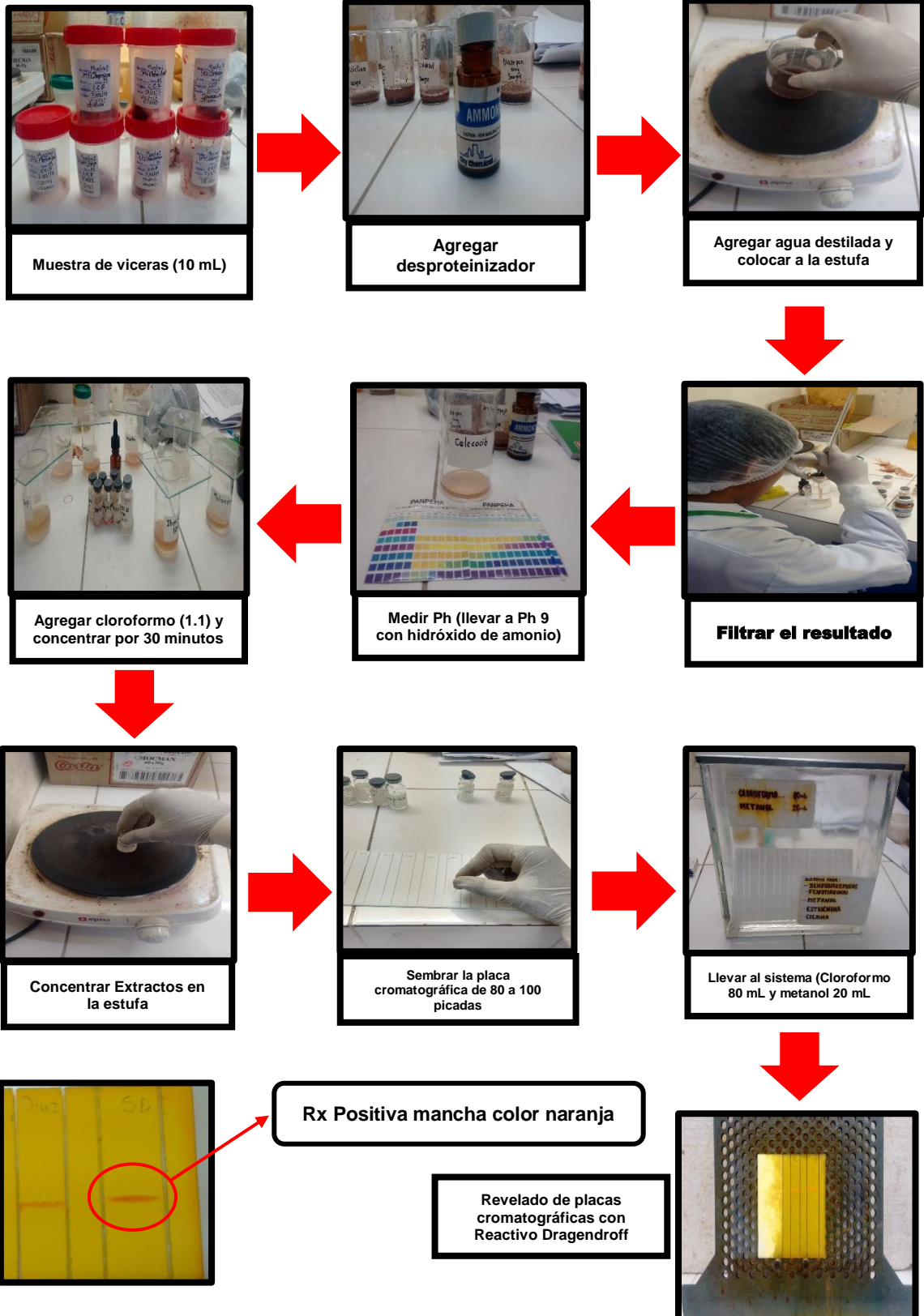
**Revelado de placas cromatográficas con Reactivo Dragendroff**



Fuente: Elaboración propia, setiembre 2017

### ANEXO 3

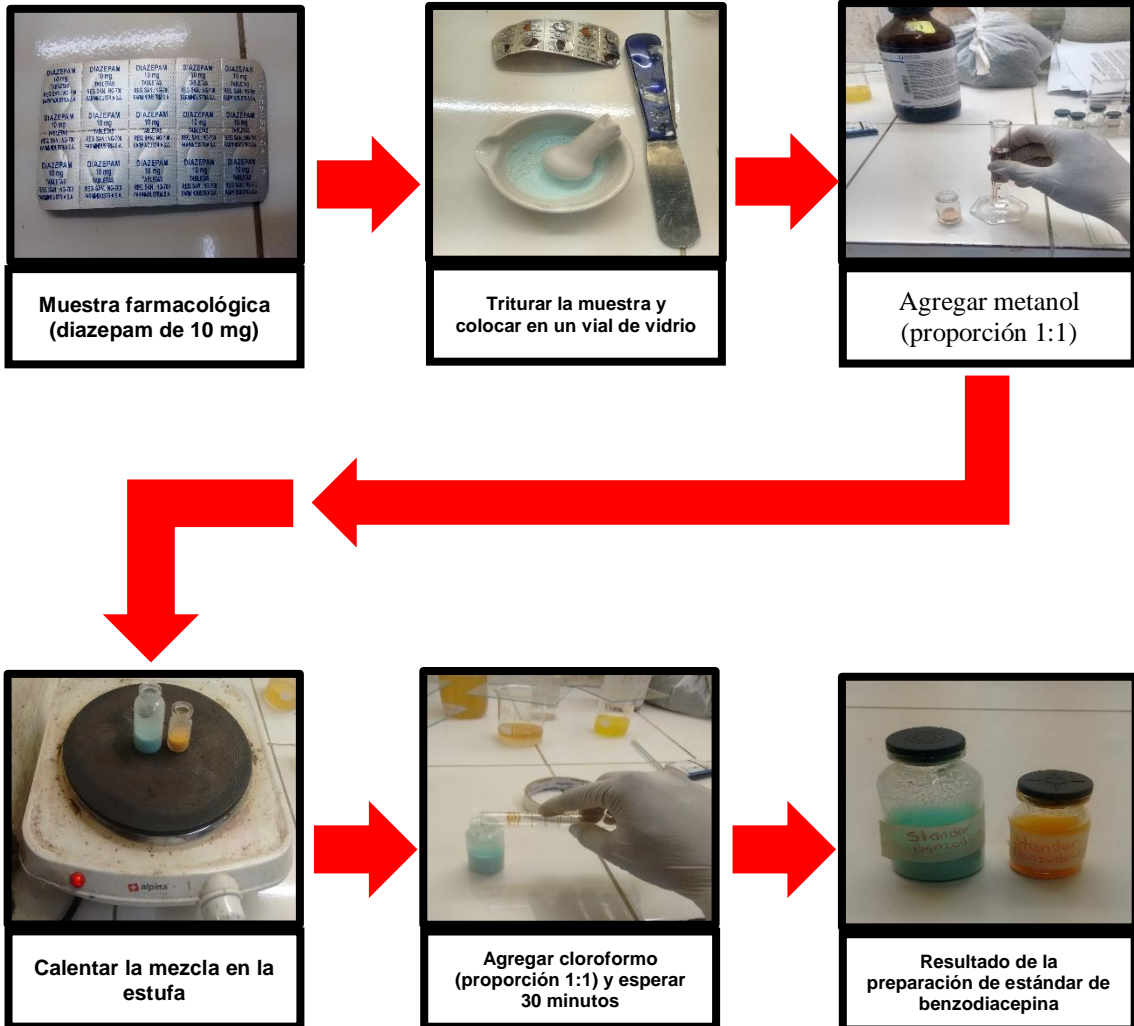
## MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE BENZODIAZEPINAS POR MUESTRA DE VICERAS: *rattus norvegicus* "RATAS ALBINAS WISTAR"



Fuente: Elaboración propia, setiembre 2017

#### ANEXO 4

### MÉTODO DE PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES DE BENZODIAZEPINAS



Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

### ANEXO 5

### RESULTADOS



CUADRO N° 5

	BLANCO	ESTÁNDAR	METAMIZOL 500 mg M1	DOXICICLINA 100 mg M2	SMT/TMP 800mg/160 mg M3	CELECOXIB 200 mg M4	IBUPROFENO 800 mg M5	METRONIDAZOL 500 mg M6	DIAZEPAM 10 mg M7
Rx Negativa	-			-	-				
Rx Positiva		+	+			+	+	+	+

Fuente: Elaboración propia, setiembre 2017

**“DETERMINACIÓN DE FALSOS POSITIVOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE BENZODIAZEPINAS  
EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA”**

*Bach. Gyordi Elvis Parco Vidalon  
Bach. Jorge Luis Rodríguez Carbajal*

*Fecha: 19/08/2017*

*Hora: 06:30*

CUADRO N° 1

	PESO (g)	TALLA (cm)	SEXO	EDAD (meses)	ACLIMATACION (días)	1° DOSIS (mg/kg)
	<i>Muestra Estándar 1</i>			Reacción Negativa		
	<i>Muestra Estándar 2</i>			Reacción Positiva		
<i>M1</i>	285.8 g	47.6 cm	M	4 meses	3 días	12.5 mg/Kg
<i>M2</i>	287.9 g	46.8 cm	M	4 meses	3 días	4 mg/kg
<i>M3</i>	295.3 g	48.5 cm	M	4 meses	3 días	4.5 mg/kg
<i>M4</i>	280.7 g	47.7 cm	M	4 meses	3 días	0.5 mg/kg
<i>M5</i>	279.3 g	46.9 cm	M	4 meses	3 días	5 mg/kg
<i>M6</i>	291.8 g	48.3 cm	M	4 meses	3 días	7.5mg/kg
<i>M7</i>	283.9 g	47.6 cm	M	4 meses	3 días	5 mg/kg

Fuente: Elaboración Propia, setiembre 2017



*Esther N. Quispe Quispe*  
CIP. 31106068  
SOT1 F PNP  
QUÍMICO FARMACÉUTICO  
CQFP 11125

GRUPO DE MUESTRA ESTANDAR  
 GRUPO EXPERIMENTAL

**“DETERMINACIÓN DE FALSOS POSITIVOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE BENZODIAZEPINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE CAPA FINA”**

Bach. Gyordi Elvis Parco Vidalon  
 Bach. Jorge Luis Rodríguez Carbajal  
 Fecha: 19/08/2017  
 Hora: 07:00 a.m

CUADRO N° 2

MUESTRA	MEDICAMENTO	DOSIS mg/kg	TIEMPO DE DOSIFICACION
Muestra Estándar 1	Reacción Negativa		
Muestra Estándar 2	Reacción Positiva		
M1	METAMIZOL 500 mg	12.5 mg /kg	C/ 8 H 07:00 a.m
M2	DOXICICLINA 100 mg	4 mg/kg	C/ 12 H 08:00 a.m
M3	SMT/TMP 800 mg/160 mg	4.5 mg/kg	C/ 12 H 09:00 a.m
M4	CELECOCIB 200 mg	0.5 mg/kg	C/ 12H 10:00 a.m
M5	IBUPROFENO 800 mg	5 mg/kg	C/ 24 H 11:00 a.m
M6	METRONIDAZOL 500mg	7.5 mg/kg	C/ 12 H 12:00 a.m
M7	DIAZEPAM 10 mg	5 mg/kg	C/ 24 H 13:00 p.m

Fuente: Elaboración propia, setiembre 2017



  
 CIP. 31106068  
 Esther N. Quispe Quispe  
 SOT1 F PNP  
 QUÍMICO FARMACÉUTICO  
 CQFP 11125

 GRUPO DE MUESTRA ESTANDAR  
 GRUPO EXPERIMENTAL

**“DETERMINACIÓN DE FALSOS POSITIVOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE BENZODIAZEPINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA”**

Bach. Gyordi Elvis Parco Vidalon  
Bach. Jorge Luis Rodríguez Carbajal

Fecha: 19/08/2017

Hora: 14:30

CUADRO N° 3

	PESO (g)	TALLA (cm)	SEXO	EDAD (meses)	ACLIMATACION (días)	2° DOSIS (mg/kg)
	<i>Muestra Estándar 1</i>			Reacción Negativa		
	<i>Muestra Estándar 2</i>			Reacción Positiva		
<i>M1</i>	285.8 g	47.4 cm	M	4 meses	3 días	12.5 mg/Kg
<i>M2</i>	287.9 g	46.8 cm	M	4 meses	3 días	4 mg/kg
<i>M3</i>	295.5 g	48.5 cm	M	4 meses	3 días	4.5 mg/kg
<i>M4</i>	280.9 g	47.7 cm	M	4 meses	3 días	0.5 mg/kg
<i>M5</i>	280.1 g	46.9 cm	M	4 meses	3 días	5 mg/kg
<i>M6</i>	291.9 g	48.3 cm	M	4 meses	3 días	7.5mg/kg
<i>M7</i>	283.9 g	47.8 cm	M	4 meses	3 días	5 mg/kg

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017

 GRUPO DE MUESTRA ESTANDAR  
 GRUPO EXPERIMENTAL



*Esther N. Quispe*  
CIP. 31106068  
Esther N. Quispe Quispe  
SOT1 F PNP  
QUÍMICO FARMACÉUTICO  
CQFP 11125



**“DETERMINACIÓN DE FALSOS POSITIVOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE BENZODIAZEPINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE CAPA FINA”**

Bach. Gyordi Elvis Parco Vidalon  
Bach. Jorge Luis Rodríguez Carbajal  
Fecha: 19/08/2017  
Hora: 13:00 p.m

CUADRO N° 4

MUESTRA	MEDICAMENTO	DOSIS mg/kg	TIEMPO DE DOSIFICACION
Muestra Estándar 1		Reacción Negativa	
Muestra Estándar 2		Reacción Positiva	
M1	METAMIZOL 500 mg	12.5 mg /kg	C/ 8 H 13:00 p.m
M2	DOXICICLINA 100 mg	4 mg/kg	C/ 12 H 20:00 p.m
M3	SMT/TMP 800 mg/160 mg	4.5 mg/kg	C/ 12 H 21:00 p.m
M4	CELECOCIB 200 mg	0.5 mg/kg	C/ 12H 22:00 p.m
M6	METRONIDAZOL 500mg	7.5 mg/kg	C/ 12 H 00:00 p.m

 GRUPO DE MUESTRA ESTANDAR  
 GRUPO EXPERIMENTAL

Fuente: Elaboración Propia, Setiembre 2017



  
CIP. 31100063  
Esther N. Quispe Quispe  
SOT1 F PNP  
QUÍMICO FARMACÉUTICO  
CQFP 11125

**“DETERMINACIÓN DE FALSOS POSITIVOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE BENZODIAZEPINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE CAPA FINA”**

Bach. Gyordi Elvis Parco Vidalon  
Bach. Jorge Luis Rodríguez Carbajal

Fecha: 20/08/2017

Hora: 15:00 p.m

CUADRO N° 5

	PESO (g)	TALLA (cm)	SEXO	EDAD (meses)	ACLIMATACION (días)	DOSIS (mg/kg)
<i>Muestra Estándar 1</i>			Reacción Negativa			
<i>Muestra Estándar 2</i>			Reacción Positiva			
<i>M1</i>	287.9 g	47.6 cm	M	4 meses	3 días	12.5 mg/Kg
<i>M2</i>	288.5 g	46.8 cm	M	4 meses	3 días	4 mg/kg
<i>M3</i>	298.1 g	48.5 cm	M	4 meses	3 días	4.5 mg/kg
<i>M4</i>	283.5 g	47.7 cm	M	4 meses	3 días	0.5 mg/kg
<i>M5</i>	283.1 g	46.9 cm	M	4 meses	3 días	5 mg/kg
<i>M6</i>	292.9 g	48.3 cm	M	4 meses	3 días	7.5mg/kg
<i>M7</i>	284.0 g	47.8 cm	M	4 meses	3 días	5 mg/kg

Fuente: Elaboración propia, Setiembre 2017



  
 CIP. 31109068  
**Esther N. Quispe Quispe**  
 SOT1 F PNP  
 QUÍMICO FARMACÉUTICO  
 CQFP 11125

 GRUPO DE MUESTRA ESTANDAR  
 GRUPO EXPERIMENTAL

**“DETERMINACIÓN DE FALSOS POSITIVOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE BENZODIAZEPINAS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA”**

*Bach. Gyordi Elvis Parco Vidalon  
Bach. Jorge Luis Rodríguez Carbajal*

*Fecha: 21/08/2017*

*Hora: 15:00 p.m*

**CUADRO N° 6**

	PESO (g)	TALLA (cm)	SEXO	EDAD (meses)	ACLIMATACION (días)	DOSIS (mg/kg)
	<b>Muestra Estándar 1</b>			Reacción Negativa		
	<b>Muestra Estándar 2</b>			Reacción Positiva		
<b>M1</b>	288.3 g	47.6 cm	M	4 meses	3 días	12.5 mg/Kg
<b>M2</b>	289.1 g	46.8 cm	M	4 meses	3 días	4 mg/kg
<b>M3</b>	298.3 g	48.5 cm	M	4 meses	3 días	4.5 mg/kg
<b>M4</b>	285.9 g	47.7 cm	M	4 meses	3 días	0.5 mg/kg
<b>M5</b>	283.7 g	46.9 cm	M	4 meses	3 días	5 mg/kg
<b>M6</b>	291.5 g	48.3 cm	M	4 meses	3 días	7.5mg/kg
<b>M7</b>	283.9 g	47.8 cm	M	4 meses	3 días	5 mg/kg

Fuente: Elaboración Propia, Setiembre 2017



*Esther N. Quispe Quispe*  
CIP: 31106068  
**Esther N. Quispe Quispe**  
SOT1 F PNP  
QUÍMICO FARMACÉUTICO  
CQFP 11125

 GRUPO DE MUESTRA ESTANDAR  
 GRUPO EXPERIMENTAL