

# Emprego da microextração líquido-líquido assistida por ultrassom na investigação de benzodiazepinas em sangue.

Cecília de A. Bhering<sup>1</sup>(PG), Ananda S. Antonio<sup>1</sup> (PG), Gleicielle T. Wurzler<sup>1</sup> (PG), Francisco R. de A. Neto<sup>1</sup> (PQ), Gabriela V. Costa<sup>1</sup>(PQ)

\*e-mail: gabrielavanini@iq.ufrj.br

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Núcleo de Análises Forenses (NAF), Brazil, 21941-598.

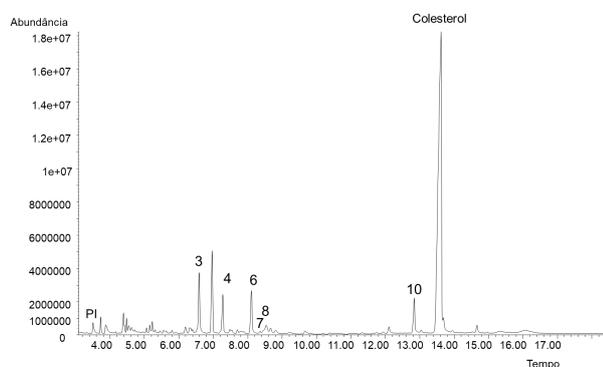
Palavras Chave: MELLD-AU, CG-EM, sangue, química forense.

## Introdução

Os benzodiazepínicos (BDZ) são medicamentos comumente prescritos para o tratamento da ansiedade. Nos últimos anos, entretanto, os BDZ também têm sido consumidos de forma recreativa, aumentando significativamente os casos de overdoses do tipo fatal e não fatal<sup>1</sup>. Diante dessa situação emergente, este estudo teve como objetivo desenvolver um método novo, rápido e confiável para a extração e identificação dessas drogas em amostras de sangue.

## Resultados e Discussão

Para o desenvolvimento do método foram utilizadas amostras de sangue fortificadas com 10 BDZ diferentes e cafeína (padrão interno). A microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom (MELLD-AU) foi desenvolvida avaliando a eficácia de extração dos solventes de extração diclorometano (DCM) e acetato de etila, dos agentes precipitantes (acetonitrila - ACN ou metanol - MeOH) e o emprego de etapa de dessalgamento. Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) nos modos SIM e SCAN (m/z 40 – 600). Pelo modo SCAN, 6 de 10 BDZ foram identificadas em 10 µg mL<sup>-1</sup>: diazepam, clordiazepóxido, midazolam, flunitrazepam, bromazepam e alprazolam (Figura 1).



**Figura 1.** Cromatograma obtido com amostra de sangue fortificada com 10 BDZ (10 µg mL<sup>-1</sup>) e PI (25 µg mL<sup>-1</sup>). Identificados no cromatograma: diazepam (3), clordiazepóxido (4), midazolam (6),

flunitrazepam (7), bromazepam (8), alprazolam (10) e cafeína (PI).

O uso de DCM apresentou maior rendimento em todos os experimentos. Concentrações entre 10 e 0,4 µg mL<sup>-1</sup>, precisaram ser adquiridas pelo modo SIM. A análise por CG-EM demonstrou que a etapa de dessalgamento não melhorou o rendimento da extração dos BDZ, nem favoreceu o processo de limpeza, como ocorreu no estudo de Lin *et al.* (2021)<sup>2</sup>. A precipitação de proteínas foi favorecida em presença de ACN. Além disso, a ACN foi capaz de promover uma separação clara entre as fases orgânica e aquosa, após avaliados ambos os solventes de extração. O uso de MeOH como agente dispersivo resultou em uma emulsão com DCM e acetato de etila.

## Conclusões

A análise desenvolvida por MELLD-AU e CG-EM mostrou-se eficaz para a extração, identificação de 6 de 10 BDZ (diazepam, clordiazepóxido, midazolam, flunitrazepam, bromazepam e alprazolam) em amostras de sangue fortificadas, com melhor seletividade do que Lin *et al.* (2021)<sup>2</sup>. A ausência de 4 BDZ ainda está sob avaliação para determinar se foi devido a um efeito da matriz ou da seletividade do método. A extração desses 6 BDZ por UA-DLLME foi melhorada pelo uso da ACN como agente precipitante e do DCM como solvente extrator. O processo de dessalgamento não trouxe benefícios claros. Ainda não há registros no estado do Rio de Janeiro de protocolos analíticos desenvolvidos para a extração e análise qualitativa e quantitativa de BDZ em sangue pelo uso de MELLD-AU e CG-EM. Este estudo pode beneficiar os laboratórios forenses, promovendo uma análise mais barata, rápida e reprodutível, mantendo a sensibilidade para a detecção desses analitos.

## Agradecimentos

CAPES, CNPq, FAPERJ.

<sup>1</sup> Høiseth, G.; Tuv, S.S. e Karinen, R. *Forensic Science International*. **2016**, 268, 35–38.

<sup>2</sup> Lin, Z.; Li, J.; Zhang, X.; Qiu, M.; Huang, Z. e Rao, Y. *Journal of Chromatography B*. **2017**, 1046, 177-184.