



Benzodiazepínicos: farmacologia, uso, contaminação ambiental e métodos analíticos para sua determinação

Benzodiazepines: Pharmacology, use, environmental contamination and analytical methods for its determination

Ulana Chaves Sarmiento¹, Tatiana Pires de Souza², Aline Tiveron Marini³, Elaine Cristina Melhado Bidoia Lopes⁴.

¹Farmacêutica – Mestre em Farmácia pela UFMS.

²Farmacêutica- Especialista em Gestão de Saúde pela UEMS.

³Farmacêutica- Especialista em Farmacologia Aplicada a Prática Clínica pela Unyleya

⁴Farmacêutica- Especialista em Farmacologia pela UFLA/MG

<http://www.seer.ufms.br/index.php/pecibes/index>

*Autor correspondente:

Ulana Sarmiento. Hospital
Universitário Maria
Aparecida Pedrossian –
HUMAP-UFMS.

E-mail do autor:

ulana.sarmiento@ebserh.gov.br

Palavras-chave:

Benzodiazepínicos.
Contaminação
ambiental. Consumo.
Farmacologia. Estudos
ecotoxicológicos.

Resumo

Os benzodiazepínicos (BZD) estão entre os medicamentos mais utilizados para tratar diversos males como ansiedade, insônia, dependência química, agitação, síndrome do pânico e convulsão. Além disso, também promovem efeitos sedativos e relaxantes musculares. Eles também são estudados como potenciais contaminantes ambientais, pois o elevado consumo nas medicinas humana e veterinária e o descarte inadequado acarretam em uma deposição significativa desses fármacos e seus metabólitos no meio ambiente. Diante da importância sobre essa classe de fármacos, realizou-se uma busca direta em bases de dados indexadas com o objetivo de nortear futuros trabalhos na área de controle de qualidade e monitoramento ambiental de BZD, avaliação de efeitos tóxicos dos fármacos e dos respectivos produtos de degradação em organismos aquáticos além de fazer uma revisão bibliográfica acerca de seu uso, origem, relação estrutura atividade, consumo e os métodos analíticos para sua determinação.

Key-words:

Benzodiazepines.
Environmental
contamination.
Consumption.
Pharmacology.
Ecotoxicological
studies.

Abstract

Benzodiazepines (BZDs) are among the most used drugs to treat various ailments such as anxiety, insomnia, chemical dependency, agitation, panic syndrome and seizures. In addition, they also promote sedative and muscle relaxant effects. They are also important in an uplifting and direct position, as they potentially contaminate human medicine and consumption in human and specific medicines which can affect human medicine and its environmental status. on indexed bases with the control of in addition to future work and monitoring of BZD quality, effects of its products of environmental quality and evaluation objectives of environmental objectives of evaluation objectives in addition to making a detailed approach of use, origin, structure of activity, consumption and analytical methods for its determination.

Introdução

Os benzodiazepínicos (BZD), desde que foram descobertos, estão entre os fármacos mais prescritos para tratar ansiedade, insônia, dependência química, agitação, síndrome do pânico e convulsão, além de promoverem efeitos sedativos e relaxantes musculares. Muitos desses compostos também são usados na medicina veterinária para induzir anestesia e como estimulante do apetite (Berridge; Pecina, 1995; Garcia, 2014).

Por serem muito consumidos, os BZD são fármacos bastante estudados e inúmeros métodos analíticos foram desenvolvidos para avaliar a qualidade dos mesmos, de forma isolada ou associada a outros BZD e também a fármacos de outras classes, sendo a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a espectrometria de massas (EM) e a detectores de arranjo de diodos (DAD) a técnica empregada com maior frequência (Kazemifard et al., 2008; Uddin et al., 2009; Pathak et al., 2010; Tulja et al., 2011; Al-Hawashi et al., 2012; Kakde et al., 2013; RAO et al., 2014; Maheshwar et al., 2015; Chauhan; Patel, 2016; Sreeram; Abbaraju, 2017).

Os BZD também são estudados como potenciais contaminantes ambientais, pois o elevado consumo nas medicinas humana e veterinária e o descarte inadequado acarretam em uma deposição significativa desses fármacos e seus metabólitos no meio ambiente, principalmente nos compartimentos áqueos, uma vez que constituem os principais receptores de contaminantes (Trawinski; Skibinski, 2017).

Um exemplo disso é o trabalho de revisão de literatura de Cunha et al. (2017), que apontou a presença de benzodiazepínicos em ambientes aquáticos de 34 países no período de 1998 a 2017. A Europa foi o maior grupo com 1191 registros em 23 países. No continente americano, a presença desses fármacos foi reportada em cinco países (EUA, Brasil, Canadá, Groenlândia e México) que somaram 305 registros. No continente asiático foram encontrados 143 artigos, sendo mais de 50% provenientes da China. E na Oceania foram encontrados três trabalhos realizados na Austrália (Cunha et al., 2017).

Para avaliar os danos provocados pelos produtos farmacêuticos nos organismos aquáticos são utilizados os

estudos ecotoxicológicos, os quais descrevem a relação entre os poluentes químicos, o ambiente em que são liberados e os organismos que ali vivem (Silva et al., 2015).

Diante do exposto e da importância sobre essa classe de fármacos, tanto como contaminantes ambientais quanto como fármacos intensamente utilizados pela sociedade o objetivo do presente trabalho foi mapear estudos existentes sobre o tema para nortear futuros trabalhos na área de controle de qualidade e monitoramento ambiental de BZD, avaliação de efeitos tóxicos dos fármacos e dos respectivos produtos de degradação em organismos aquáticos além de fazer uma revisão bibliográfica acerca de seu uso, origem, relação estrutura atividade, consumo e os métodos analíticos para sua determinação.

2. Material e Métodos

Para elaboração do trabalho foi realizado um levantamento de dados científicos, baseando-se na análise de artigos e literatura relacionados ao assunto. Os artigos científicos em relação aos benzodiazepínicos foram obtidos por busca direta em bases de dados indexadas, utilizando as seguintes palavras-chaves e suas correspondentes em inglês: benzodiazepínicos, contaminação ambiental por benzodiazepínicos, consumo dos benzodiazepínicos, farmacologia dos benzodiazepínicos, estudos ecotoxicológicos envolvendo benzodiazepínicos. Adotou-se critérios de inclusão como artigos completos publicados em periódicos nacionais e internacionais e sites oficiais e critérios de exclusão como teses, capítulos de teses, anais de congressos ou conferências, relatórios técnicos. Encontrou-se cerca de 200 referências relacionados ao tema e após aplicação dos métodos de inclusão e exclusão cerca de setenta foram selecionados para escrever o manuscrito. Em relação a delimitação do período de publicação, buscou-se referências desde 1970 até 2022. As bases pesquisadas foram Google Acadêmico, OvidSP, Scopus, Web of Knowledge, Scientific Electronic Library Online (SciELO).

3. Resultados e Discussão

3.1. Depressão e Ansiedade

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, o número de pessoas que vivem com depressão e ansiedade aumentou 18,4% e 14,9% entre 2005 e 2015, respectivamente. Atualmente, há 322 milhões de pessoas depressivas e outras 264 milhões de pessoas afetadas pela ansiedade no mundo (Oms, 2017). Essas são as doenças mentais mais comuns, acometendo de 10 a 15% da população em algum período da vida e em 40 a 50% dos casos ocorre comorbidade (Ionescu, et al., 2013).

O Brasil é o país da América Latina com maior prevalência de depressão, sendo que 5,8% da população são acometidos pela doença. Em relação a ansiedade, o Brasil é recordista mundial, pois 9,3% da população sofrem com o problema (Oms, 2017).

Nesse cenário, um dado alarmante é o número de pessoas que morreram por suicídio no mundo. Em 2015, 788 mil pessoas tiraram a própria vida, figurando entre as vinte maiores causas de morte do referido ano. Já entre os jovens de 15 a 29 anos, o suicídio foi a segunda maior causa de morte em 2015 (Oms, 2017).

Diante das consequências trágicas que essas desordens mentais podem acarretar, a intervenção farmacológica combinada a terapias psicológicas são fundamentais. Os medicamentos antidepressivos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) e os inibidores da recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN) são recomendados como primeira linha de tratamento, seguidos pelos BZD (Ellen et al., 2007; Farach et al., 2012).

3.2. Benzodiazepínicos

3.2.1. Origem

Os BZD foram descobertos na década de 1950 pelo pesquisador Leo H. Sternbach nos Estados Unidos, sendo que o primeiro deles, o clordiazepóxido, foi sintetizado de forma acidental, quando se percebeu que a estrutura originalmente atribuída à molécula mudou durante a síntese (Sterbach, 1971; Bernik, 1999).

Nos primeiros ensaios pré-clínicos e clínicos o novo fármaco já mostrou efeitos ansiolíticos e foi disponibilizado comercialmente em 1960. A partir de então, novos compostos derivados do clordiazepóxido foram

desenvolvidos, como o oxazepam em 1961, o nitrazepam em 1962 e o diazepam em 1963, chegando a mais de 50 substâncias disponíveis nas três décadas seguintes (Bernik, 1999; Aastha et al., 2013).

3.2.2 Relação estrutura atividade e mecanismo de ação

A estrutura geral dos BZD, representada na Figura 1, contempla um anel benzeno (A) fusionado a um anel diazepínico de sete membros (B), bem como um substituinte 5-arila (C). Vários substituintes foram adicionados ao sistema de anéis, resultando em compostos com atividades similares, como as 1,5-benzodiazepinas, e também em um composto com atividade antagonista, o flumazenil (Brunton et al., 2012).

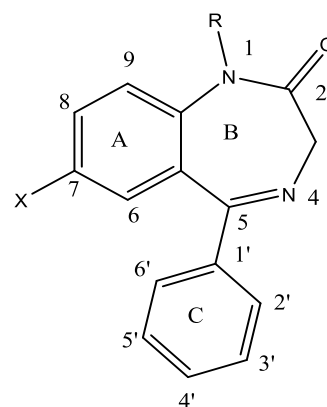


Figura 1. Estrutura geral dos benzodiazepínicos.

Fonte: Próprio autor. ChemDraw Professional 16.0.

O anel aromático (A) é necessário para a atividade farmacológica, pois interage (π - π) com os resíduos de aminoácidos aromáticos do receptor (Thakur et al., 2010). O substituinte eletronegativo na posição 7 também é importante e quanto mais eletronegativo for, maior a atividade. Já as posições 6, 8 e 9 não devem ser substituídas (Lemke et al., 2012; Mohsin; Qadir, 2015).

O anel aromático na posição 5 (C) também pertence ao grupo farmacofórico e se este anel for *orto* (2') ou *di-orto* (2', 6') substituído por grupos retiradores de elétrons, a atividade farmacológica é aumentada (*e.g.* clonazepam). Por outro lado, a substituição em *para* (4') diminui

significativamente a atividade. Já a substituição desse anel por uma função cetona e a adição de um substituinte metila na

posição 4, são aspectos estruturais importantes do flumazenil, um antagonista do receptor benzodiazepínico (Brunton et al., 2012; Silva Júnior et al., 2014).

No anel diazepínico (B), a saturação da dupla ligação 4-5 ou uma mudança da mesma para a posição 3-4 diminui a atividade, assim como um substituinte alquila na posição 3. Entretanto, um substituinte hidroxila na posição 3 não diminui a atividade, mas sim o tempo de meia-vida dos compostos, pois além de mais polares, sofrem conjugação com ácido glicurônico rapidamente e posteriormente são excretados na urina (Lemke et al., 2012).

A função carbonila na posição 2 é importante para a atividade, assim como o átomo de nitrogênio na posição 1, pois interagem por ligações de hidrogênio com o resíduo de histidina presente no receptor. Outros anéis, como triazol ou imidazol podem ser adicionados nas posições 1 e 2 e aumentar a atividade (e.g. alprazolam e midazolam), pois mantêm as ligações de hidrogênio com o receptor benzodiazepínico (Lemke et al., 2012; Mohsin; Qadir, 2015).

Os BZD atuam nos receptores GABA_A (receptores de neurotransmissores inibitórios do sistema nervoso central) ligando-se a um local específico e distinto do ponto de ligação do ácido gama-aminobutírico (GABA). Dessa forma, os BZD não ativam os receptores GABA_A diretamente, mas atuam de maneira alostérica realçando os efeitos do GABA. E, por consequência, os principais efeitos dos BZD são sedação, hipnose, redução da ansiedade, relaxamento muscular, amnésia anterógrada e atividade anticonvulsivante (Brunton et al., 2012).

3.2.3. Informações sobre o consumo

As várias ações farmacológicas promovidas pelos BZD fizeram a classe liderar a lista dos cinco medicamentos controlados mais comercializados no Brasil e ser responsável por cerca de 50% de toda a prescrição de psicotrópicos. De acordo com o mapeamento do Sistema Nacional de Gerenciamento de Produtos Controlados (SNGPC) gerenciado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária

(ANVISA), os princípios ativos mais consumidos foram clonazepam, alprazolam e bromazepam no período de 2009 a 2011 (Calais; Garcia, 2013).

Na Portaria 344 de 12 de maio de 1998, que aprova o regulamento técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial, constam 36 BZD na Lista B1, os quais devem ser vendidos somente com notificação de Receita “B” (Brasil, 1998), mesmo assim, estima-se que 50 milhões de brasileiros façam uso diário de BZD (Calais; Garcia, 2013).

3.3. Contaminação ambiental por benzodiazepínicos

O elevado consumo dos BZD a nível mundial faz desses fármacos potenciais contaminantes ambientais, principalmente pelo descarte indevido. Entretanto, dados relacionados à persistência, destino e toxicidade desses compostos no ambiente ainda são escassos, uma vez que a maioria dos artigos científicos aborda apenas a identificação e a quantificação dos fármacos e de produtos de degradação no ecossistema (Kosjek et al., 2012).

Jakobsen (2009) investigou a presença de alguns BZD em águas residuais das estações de tratamento de esgoto (ETE) da Noruega no período de 2005 a 2007. O pesquisador encontrou quantidades consideráveis de midazolam e outros fármacos nas amostras analisadas.

Kosjek e colaboradores (2012) avaliaram a ocorrência dos BZD diazepam, oxazepam e bromazepam em água de rios, em efluentes hospitalares e em águas provenientes das ETE. O estudo revelou a presença dos BZD e de produtos de degradação relacionados em todas as amostras, sendo as maiores quantidades encontradas em efluentes hospitalares, dessa forma demonstraram que o sistema de tratamento não é eficaz para remoção de fármacos da água.

Mendoza et al. (2014) analisou a variação sazonal (inverno e verão) de drogas de abuso e três BZD nas águas superficiais de rios e de torneira na região de Madrid (Espanha). Os BZD alprazolam, diazepam e lorazepam foram encontrados em ambas as estações nas águas dos rios

investigados. Ainda na Espanha, Racamonde et al. (2014) encontrou sete BZD em águas provenientes de ETE do noroeste do país.

Fick e colaboradores (2017) avaliaram trinta rios europeus em relação a presença de BZD. Nesse estudo, os resultados mostraram a ocorrência de um ou mais BZD em 86% das amostras de águas superficiais analisadas, sendo encontrado com maior frequência os fármacos oxazepam, temazepam, clobazam e bromazepam.

No Brasil, três trabalhos foram encontrados até o momento relatando a ocorrência dos BZD em ambientes aquáticos. Entretanto, esses artigos (descritos em seguida) mencionam apenas a identificação dos compostos nas amostras, sem avaliar os efeitos ecotoxicológicos.

Em 2013, Almeida e colaboradores desenvolveram uma metodologia analítica para a determinação de drogas psicoativas no efluente tratado do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Maria, RS - Brasil. Ao aplicar o método, foram encontrados quatro BZD (bromazepam, diazepam, lorazepam e clonazepam) nas amostras analisadas (Almeida et al., 2013).

Em 2015, o mesmo autor analisou a presença do fármaco diazepam e seus metabólitos nas águas residuais do referido hospital. Além do fármaco, os pesquisadores encontraram os metabólitos nordiazepam e oxazepam, ambos com persistência ambiental (Almeida et al., 2015).

Já Ferreira (2014) avaliou a presença de fármacos psiquiátricos na água destinada ao abastecimento público no município do Rio de Janeiro (Brasil). O estudo revelou a presença dos BZD bromazepam, clonazepam e diazepam em todas as amostras coletadas do rio Guandu.

3.4 Estudos ecotoxicológicos envolvendo benzodiazepínicos

A ocorrência de fármacos e seus metabólitos em diversos ambientes aquáticos, como esgoto, rios e até mesmo água potável já foi comprovada em vários países de todos os continentes, pois conforme ilustrado na Figura 2, os ambientes áquicos são os principais receptores desses compostos oriundos de diversas vias (Bila; Dezotti, 2003; Garcia et al., 2014).

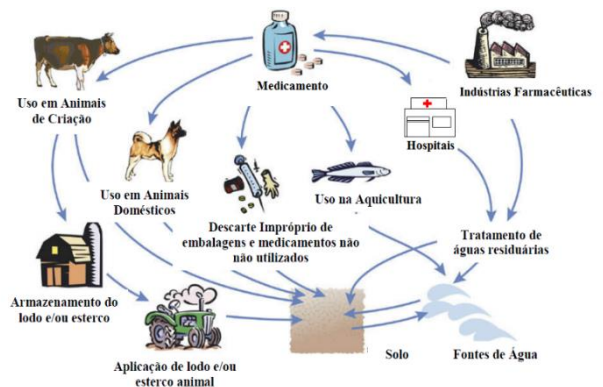


Figura 2. Principais vias de contaminação do meio ambiente pelos fármacos e seus metabólitos.

Fonte: Boxall, 2004.

Os testes de toxicidade aquática são realizados com organismos aquáticos de diferentes níveis de organização ecológica, como algas, crustáceos, peixes e bactérias. Tais ensaios produzem informação sobre a toxicidade de uma determinada substância sob condições controladas e complementam as análises físico-químicas. Além disso, a ecotoxicologia permite avaliar os riscos decorrentes da presença de substâncias tóxicas no meio ambiente (Costa et al., 2008).

Poucos estudos ecotoxicológicos envolvendo BZD foram encontrados, mas todos demonstraram a toxicidade desses agentes em diferentes espécies aquáticas. Nunes et al. (2005) comprovou os efeitos nocivos do fármaco diazepam frente aos organismos aquáticos *Tetraselmis chuii*, *Artemia parthenogenetica* e *Gambusia holbrooki*, alga marinha, crustáceo e peixe, respectivamente.

Brodin et al. (2013) avaliou a ecotoxicidade do oxazepam na espécie de peixe *Perca fluviatilis*. Os indivíduos expostos ao fármaco na concentração de $1,8 \mu\text{g L}^{-1}$ exibiram aumento da atividade, redução da socialidade e maior taxa de alimentação, confirmando que o fármaco é danoso ao

ecossistema mesmo em baixas concentrações.

3.5. Métodos analíticos para determinação dos benzodiazepínicos

Devido a importância dos BZD, principalmente pelo alto consumo e pelos efeitos que esses fármacos provocam no SNC, muitos trabalhos são encontrados na literatura científica abordando a determinação e a quantificação dos vários BZD associados ou não a outros fármacos em matrizes biológicas, farmacêuticas e de interesse forense.

A tabela abaixo auxilia na visualização das amostras e metodologias utilizadas pelos diferentes autores para a determinação e quantificação dos BZD:

Ano	Autores	Amostras Utilizadas	Metodologia Validada
2005	Laloup et al	Determinação simultânea de 26 BZD e seus metabólitos em amostras de sangue, urina e cabelo por meio da CLAE-EM.	Os compostos foram separados em uma coluna C18 com eluição gradiente dos solventes ácido fórmico 0,1% e metanol sob a vazão de 0,2 mL min ⁻¹ durante 35 minutos.
2007	Moore et al	Os pesquisadores conseguiram quantificar 14 BZD empregando a CLAE-EM em amostras de fluidos orais.	Condições: coluna C18 mantida a 35 °C, fase móvel composta de formato de amônia pH 8,6 e acetonitrila (50:50 v/v) e vazão variando de 0,2 a 1,0 mL min ⁻¹ durante o tempo de análise de 10 minutos.
2008	Uddin et al	Os pesquisadores apresentaram um método para a determinação simultânea de seis BZD em fluidos biológicos por meio da CLAE-UV.	A separação foi realizada em coluna C8, fase móvel composta de acetato de amônia 0,05 M, acetonitrila e metanol, vazão de 1,0 mL min ⁻¹ e eluição gradiente durante 15 minutos.
2009	Nakamura e colaboradores	Utilizaram a CLAE-EM para a determinação simultânea de BZD e seus metabólitos em soro humano.	As análises foram realizadas em coluna C18, eluição gradiente (solvente A: formato de amônio aquoso contendo 0,1% de ácido fórmico; e solvente B: metanol contendo 0,1% de ácido fórmico) e vazão de 0,5 mL min ⁻¹ . Em 25 minutos de corrida, 22 BZD foram determinados.
2011	Salomone et al	Apresentaram um método para quantificação de 17 BZD em amostras de urina empregando a CLAE-EM.	As condições cromatográficas utilizadas foram coluna C18, eluição gradiente da fase móvel composta por água e metanol, vazão de 1,0 mL min ⁻¹ e tempo de análise de 8 minutos.
2011	Kalíková et al	Utilizaram fármacos em comprimidos	Validaram dois métodos para a determinação simultânea de sete BZD, um por meio da CLAE e outro por meio da

			eletroforese capilar. A CLAE foi mais eficiente para a quantificação dos fármacos em comprimidos, e nessa técnica foi utilizada coluna C18, fase móvel composta de acetonitrila e água com pH ajustado para 3,0 (40:60 v/v), eluição isocrática e vazão de 2,0 mL min ⁻¹ , o que resultou em um tempo de análise inferior a 8 minutos.
2012	Sauve et al	Desenvolveram um método para quantificar vários BZD de forma não simultânea em sangue total humano antes e <i>post-mortem</i> .	Os pesquisadores utilizaram a CLAE-EM com eluição gradiente dos solventes acetonitrila (fase móvel A) e acetato de amônia pH 5,0 (fase móvel B), coluna C18, vazão de 0,6 mL min ⁻¹ e tempo de análise de 8 minutos.
2012	Magalhães et al	Quantificaram BDZ em amostra biológica. Os pesquisadores desenvolveram um método para determinação de cinco fármacos em amostras de urina por meio da CLAE-EM.	Foi empregado coluna C18, vazão de 0,2 mL min ⁻¹ e eluição gradiente, sendo a fase móvel A formato de amônio 2 mmol L ⁻¹ e a fase móvel B, acetonitrila. O tempo de análise foi de aproximadamente 14 minutos.
2013	Fernandez et al	Determinação simultânea de bromazepam, alprazolam, lorazepam, lormetazepam, diazepam e tetrazepam em humor vítreo.	A técnica utilizada foi a CLAE-DAD em coluna C18, fase móvel composta de acetonitrila e tampão fosfato 0,02 M pH 6,0 com eluição gradiente e vazão de 0,8 mL min ⁻¹ .
2014	Souri e colaboradores	Empregaram a CLAE-DAD para desenvolver um método capaz de quantificar o fármaco clobazam, bem como os produtos de degradação em comprimidos.	O pesquisador utilizou coluna C18, fase móvel composta de fosfato monopotássico 50 mM (pH 8,5) e acetonitrila (50:50 v/v), eluição isocrática e vazão de 1 mL min ⁻¹ .
2016	Soltaninejad et al.	Determinação simultânea de seis BZD em bebidas não alcoólicas por meio da CLAE.	Os pesquisadores empregaram eluição isocrática, coluna C18 na temperatura de 45°C, fase móvel constituída de tampão de fosfato:metanol (50:50 v/v) e vazão de 1,4 mL min ⁻¹ . O tempo total de análise foi de 30 minutos.
2017	Ashour e Kattan	Determinação de clorazepato em cápsulas por meio da CLAE-DAD.	As condições cromatográficas utilizadas foram coluna C8, fase móvel constituída de metanol e ácido fórmico 0,1M (67:33 v/v), modo de eluição isocrático e vazão de 1,0 mL min ⁻¹ . O clorazepato apresentou tempo de retenção de 6,85 minutos.

2017	Thangadurai e colaboradores	Os pesquisadores utilizaram a CLAE-EM para determinar dez BZD, sendo eles diazepam, lorazepam, nitrazepam, clordiazepóxido, flurazepam, alprazolam, etizolam, clobazam, clonazepam e midazolam em comprimidos, cápsulas e ampolas.	Os autores empregaram coluna C18 na temperatura de 35 °C, fase móvel composta de metanol e formato de amônia 20 mM (pH 8,6) com eluição gradiente, vazão de 0,5 mL min ⁻¹ e tempo de corrida de 25 minutos.
2017	Akram et al	Aplicaram a CLAE para a determinação simultânea do fármaco alprazolam associado a anti-histamínicos em formas farmacêuticas e em soro humano.	Nesse método, utilizou-se coluna C18, fase móvel composta de metanol e água (pH 3,5) na proporção 80:20 v/v e vazão de 1,0 mL min ⁻¹ . O tempo de retenção do alprazolam foi inferior a 3 minutos.
2017	Fayez et al	Validaram um método para determinar simultaneamente os fármacos clordiazepóxido e brometo de clidínio, além dos produtos de degradação por meio da CLAE.	Os pesquisadores utilizaram coluna C18, fase móvel contendo acetato de amônia 25mM (pH 5,4) e acetonitrila (20:80 v/v) e vazão de 1,0 mL min ⁻¹ . Nessas condições, o tempo de retenção do clordiazepóxido foi de 4,13 minutos.

Diante do exposto, observa-se que a CLAE é a técnica mais empregada para a determinação dos BZD, principalmente porque permite análise simultânea de vários fármacos da classe em uma mesma corrida. Todavia, outras técnicas também são encontradas na literatura reportando a determinação e/ou quantificação de BZD (Szatkowska et al., 2014), como a espectrofotometria UV-VIS (Kumar et al., 2011; Mutair et al., 2016; Uma et al., 2016), a cromatografia gasosa (Rasanen et al., 2000; Gunnar et al., 2005; Bairros et al., 2015), a cromatografia em camada delgada (Chhalotiya et al., 2017; Fayez et al., 2017; Hancu et al., 2011), a eletroforese capilar (McClellan et al., 1999; Švidrnoch et al., 2018), a espectrofluorimetria (Mohd et al., 2013; Ibrahim et al., 2016) e os imunoensaios (Huang; Moody, 1995; Boussairi et al., 1996).

4. Conclusão

Considerando a importância da classe farmacológica dos benzodiazepínicos, buscou-se através dessa revisão bibliográfica a ampliação dos conhecimentos sobre o comportamento desses fármacos no meio ambiente, sua toxicidade, além de informações gerais sobre a farmacologia e o consumo dos mesmos.

A busca direta realizada em bases de dados indexadas é um estímulo às novas discussões e conhecimentos sobre o tema o que poderá nortear trabalhos futuros na área de controle de qualidade e monitoramento ambiental considerando os efeitos tóxicos desses fármacos e dos respectivos produtos de degradação em organismos aquáticos.

A revisão bibliográfica também tornou possível comparar os métodos analíticos utilizados para a determinação dos benzodiazepínicos.

Declaração

Os autores declaram não possuírem conflitos de interesse de ordem: pessoal, comercial, acadêmico, político e financeiro no manuscrito.

5. Referências

- Aastha P, Navneet K, Anshu A, Pratima S, Dharma K. 1,5 Benzodiazepines: overview of properties and synthetic aspects. *Research Journal of Chemical Sciences*, 3, 90-103, 2013.
- Akram S, Ali SN, Qayoom A, Iqbal S, Naz N, Memon I. High performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of alprazolam with antihistamines in bulk drug, pharmaceutical formulation and human serum. *Sindh Univ. Res. Jour. (Sci. Ser.)*, 49, 07-12, 2017.
- Al-Hawashi H, Al-Khayat, MA, Al-Mardini MA. Development of a validated HPLC method for the separation and analysis of a Bromazepam, Medazepam and Midazolam mixture. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2, 484-491, 2012.
- Almeida CAA, Brenner CGB, Minetto L, Mallmann CA, Martins AF. Determination of anti-anxiety and anti-epileptic drugs in hospital effluent and a preliminary risk assessment. *Chemosphere*, 93, 2349-2355, 2013.
- Almeida CAA, Oliveira MS, Mallmann CA, Martins AF. Determination of the psychoactive drugs carbamazepine and diazepam in hospital effluent and identification of their metabolites. *Environ Sci Pollut Res.*, 22, 17192-17201, 2015.
- Ashour S, Kattan N. Development and validation of a new HPLC method for determination of clorazepate dipotassium in capsule formulations. *London Journal of Research in Science: natural and formal*, 17, 20-29, 2017.
- Bairros AV, Almeida RM, Pantaleão L, Barcellos T, Silva SM, Yonamine, M. Determination of low levels of benzodiazepines and their metabolites in urine by hollow-fiber liquid-phase microextraction (LPME) and gas chromatography-mass

- spectrometry (GC-MS). *Journal of Chromatography B*, 975, 24-33, 2015.
- Bernik MA. *Benzodiazepínicos: quatro décadas de experiência*. Editora: EDUSP, 1ª ed., 1999.
- Berridge KC, Pecina AS. Benzodiazepines, appetite, and taste palatability. *Neurosci Biobehav Rev.*, 19, 121-131, 1995.
- Bila DM, Dezzoti M. Fármacos no meio ambiente. *Quim. Nova*, 26, 523-530, 2003.
- Boussairi A, Dupeyron J, Hernandez B, Delaitre D, Beugnet L, Espinoza P, Diamant-Berger O. Urine benzodiazepines screening of involuntarily drugged and robbed or raped patients. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 34, 1996.
- Boxall ABA. The Environmental side effects of medication. *EMBO reports*, 5, 1110-1116, 2004.
- Brasil. Ministério da Saúde/SNVS. Portaria nº344 de 12 de maio de 1998 Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Brasília, 31 de dez. de 1998.
- Brodin T, Fick J, Jonsson M, Klaminder J. Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations. *Science*, v. 339, n. 6121, 814-815, 2013.
- Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC. *As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman*. Editora: Artmed, 12ª ed., 2012.
- Calais GSP, Garcia GC. Transtornos de ansiedade. *Saúde e Economia*, 10, 2013.
- Chauhan PP, Patel, DY. Optimization of stability indicating RP-HPLC method for The estimation of an antidepressant agents alprazolam and imipramine in pure & pharmaceutical dosage form. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 11, 101-113, 2016.
- Chhalotiya UK, Patel NM, Shah DA, Mehta, FA, Bhatt KK. Thin-layer chromatography method for the simultaneous quantification and stability testing of alprazolam and mebeverine in their combined pharmaceutical dosage form. *Journal of Taibah University for Science*, 11, 66-75, 2017.
- Costa CR, Olivi P, Botta, CMR, Espindola, ELG. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Quim. Nova*, 31, 1820-1830, 2008.
- Cunha DL, Araujo FG, Marques M. Psychoactive drugs: occurrence in aquatic environment, analytical methods, and ecotoxicity - a review. *Environ Sci Pollut Res.*, 24, 31, 24076-24091, 2017.
- Ellen S, Selzer R, Norman T, Blashki G. Depression and anxiety: pharmacological treatment in general practice. *Australian Family Physician*, 36, 222-227, 2007.
- Farach, FJ, Pruitt, LD, Jun JJ; Jerud AB, Zoellner LA, Roy-Byrne PP. Pharmacological treatment of anxiety disorders: Current treatments and future directions. *Journal of Anxiety Disorders*, v. 26, p. 833-843, 2012.
- Fayez YM, Nessim CK, MICHAEL AM, Lotfy, HM. Validated stability-indicating chromatographic methods for the determination of chlordiazepoxide and clidinium bromide in the presence of its alkali-induced degradation product: kinetic study. *Chromatographia*, 80, 911-922, 2017.
- Fernandez P, LAGO M, ALVAREZ I, CARRO AM, LORENZO R.A. Chromatographic determination of benzodiazepines in vitreous humor after microwave-assisted extraction. *Analytical Methods*, 19, 2013.
- Ferreira AP. Environmental investigation of psychiatric pharmaceuticals: Guandu river, Rio de Janeiro state, southeast Brazil. *Journal of Chemical Health Risks*, 4, 25-32, 2014.
- Fick J, Brodin T, Heynen M, Klaminder J, Jonsson M, Grabicova K, Randak T, Grabic R, Kodes V, Slobodnik J, Sweetman A, Earnshaw M, Caracciolo AB, Lettieri T, LOOS R. Screening of benzodiazepines in thirty European rivers. *Chemosphere*, 176, 324-332, 2017.
- Garcia, SAO, Pinto GP, Garcia-Encina PA, Irusta-Mata R. Ecotoxicity and environmental risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments and wastewater treatment plants. *Ecotoxicology*, v. 23, p. 1517-1533, 2014.
- Gunnar T, Ariniemi K, Lillsunde P. Determination of 14 benzodiazepines and hydroxy metabolites, zaleplon and zolpidem as tert-butyltrimethylsilyl derivatives compared with other common silylating reagents in whole blood by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 818, 175-189, 2005.
- Hancu G, Fulop E, RUSU A, Mircia E, Gyéresi A. Thin layer chromatographic separation of benzodiazepine derivatives. *Analele Universității din București – Chimie*, 20, 181 – 188, 2011.
- Huang W, Moody DE. Immunoassay detection of benzodiazepines and benzodiazepine metabolites in blood. *J Anal Toxicol.*, 19, 333-342, 1995.
- Ibrahim F, El-Enany N, Shalan S, Elsharawy R. Validated spectrofluorimetric method for the determination of clonazepam in pharmaceutical preparations. *Luminescence*, 31, 682-687, 2016.
- Ionescu DF, Niciu MJ, Henter ID, Zarate Junior CA. Defining anxious depression: a review of the literature. *CNS Spectr.*, 18, 252-260, 2013.
- Jakobsen IH. Analysis of selected benzodiazepines in the environment by HF-LPME and LC-MS/MS. 2009. Disponível em <<https://munin.uit.no/bitstream/handle/10037/2211/thesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em 27 jun. 2022.
- Kakde RB, Satone DD, Gadapayale KK, Kakde MG. Stability-indicating RP-HPLC method for the simultaneous determination of escitalopram oxalate and clonazepam. *Journal of Chromatographic Science*, 51, 490-495, 2013.
- Kaliková K, Riesova M, Chudoba R, Schmid MG, Tesarova E. Separation and quantification of 1,4-benzodiazepines: HPLC versus CZE. *Croat. Chem. Acta*, 84, 367-373, 2011.
- Kazemifard AG, Javadzadeh N, Gholami K. A new universal high-performance liquid chromatographic method for determination of 1,4-benzodiazepines as bulk drugs and in pharmaceutical formulations. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 65, 179-186, 2008.

- Kosjec T, Perko S, Zupanc M, Hrenz MZ, Dragicevic TL, Zigon D, Kompare B, Heath E. Environmental occurrence, fate and transformation of benzodiazepines in water treatment. *Water Research*, 46, 355-368, 2012.
- Kumar AK, Mohanakrishna A, Sudheer M.; RAJESH, K.S.; RAMALINGAM, P. UV spectrophotometric method for the estimation of alprazolam in tablet dosage form. *International Journal of ChemTech Research*, 3, 161-164, 2011.
- Laloup M, Fernandez MMR, Boeck G, Wood M, Maes V, Samyn N. Validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of 26 benzodiazepines and metabolites, zolpidem and zopiclone, in blood, urine, and hair. *Journal of Analytical Toxicology*, v. 29, p. 616-626, 2005.
- Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW. Foye's principles of medicinal chemistry. Editora: LWW, 7^a ed., 2012.
- Magalhães EJ, Nascentes CC, Augusti R, Queiroz MELR, SILVA JCC, AFONSO RJCF. Fast Determination of Benzodiazepines in Human Urine via Liquid-Liquid Extraction with Low Temperature Partitioning and LC-HRMS. *American Journal of Analytical Chemistry*, 3, 118-124, 2012.
- Maheswar KU, Ramu G, Rambabu C. Development of liquid chromatographic and visible spectrophotometric methods for the estimation of clobazam in tablet dosage forms. *Int J Pharm.*, 5, 137-145, 2015.
- Mcclean S, O'kane E, Hillis J, Smyth WF. Determination of 1,4-benzodiazepines and their metabolites by capillary electrophoresis and high-performance liquid chromatography using ultraviolet and electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 838, 273-291, 1999.
- Mendoza A, Rodríguez-Gil JL, González-Alonso S, Mastroianni N, López de Alda M, Barcelo D, Valcárcel Y. Drugs of abuse and benzodiazepines in the Madrid Region (Central Spain): Seasonal variation in river waters, occurrence in tap water and potential environmental and human risk. *Environment International*, 70, 76-87, 2014.
- Mohd A, Aslam A, Khan P, Bano S, Siddiqi KS. UV-absorption and fluorimetric methods for the determination of alprazolam in pharmaceutical formulation. *Arabian Journal of Chemistry*, 6, 369-378, 2013.
- Mohsin NA, Qadir MI. Recent structure activity relationship studies of 1,4-benzodiazepines. *Peertech J Med Chem Res*, 1, 8-12, 2015.
- Moore C, Coulter C, Zumwalt M. Determination of benzodiazepines in oral fluid using LC-MS-MS. *Journal of Analytical Toxicology*, 31, 596-600, 2007.
- Mutair AA, Koya PA, Al-Areqi NAS. Spectrophotometric determination of diazepam in pharmaceutical forms by ion-pairing with ferrithiocyanide complex. *Science Journal of Analytical Chemistry*, 4, 52-58, 2016.
- Nakamura M, Ohmori T, Itoh Y, Terashita M, Hirano K. Simultaneous determination of benzodiazepines and their metabolites in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using a highresolution octadecyl silica column compatible with aqueous compounds. *Biomed. Chromatogr.*, 23, *Perspectivas Experimentaise Clínicas, Inovações Biomédicas e Educação em Saúde*
- Nunes B, Carvalho, Guillermino L. Acute toxicity of widely used pharmaceuticals in aquatic species: *Gambusia holbrooki*, *Artemia parthenogenetica* and *Tetraselmis chuii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61, 413-419, 2005.
- OMS. Organização Mundial da Saúde. Depression and other common mental disorders: global health estimates. 2017. Disponível em <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254610/1/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf?ua=1>> Acesso em 25 julho. 2022.
- Pathak A, Rai P, Rajput SJ. Stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of clidinium bromide and chlordiazepoxide in combined dosage forms. *Journal of Chromatographic Science*, 48, 235-239, 2010.
- Rao PP, Reddy DM., Ramachandran D. Method development and validation for the simultaneous estimation of alprazolam and fluoxetine hcl in a pharmaceutical formulation by RP-HPLC method. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Nano Sciences*, 3, 473-481, 2014.
- Rasanen I., Neuvonen M, Ojanpera I., Vuori E. Benzodiazepine findings in blood and urine by gas chromatography and immunoassay. *Problems of Forensic Sciences*, 43, 222-230, 2000.
- Racamonge I, Rodil R., Quintana JB, Villaverde-De-Sáa E, Cela R. Determination of benzodiazepines, related pharmaceuticals and metabolites in water by solid-phase extraction and liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 1352, 69-79, 2014.
- Salamone A, Gerace E, Brizio P, Gennaro MC, Vicenti M. A fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determining benzodiazepines and analogues in urine. Validation and application to real cases of forensic interest. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53, 582-591, 2011.
- Sauve EN, Langodegard M., Ekeberg D, Oiestad AML. Determination of benzodiazepines in ante-mortem and post-mortem whole blood by solid-supported liquid-liquid extraction and UPLC-MS/MS. *Journal of Chromatography B*, v. 883-884, p. 177-188, 2012.
- Silva JS, Rocha IKBS, Freitas LC, Pereira NJ, Neta RNFC. Princípios bioéticos aplicados aos estudos ecotoxicológicos aquáticos. *Rev. bioét. (Impr.)*, 23, 409-418, 2015.
- Silva Júnior EF, Silava DL, Aquino TM., Ribeiro EAN, Serra NSJ, Araújo Júnior JX. The GABAA receptor and the neuropharmacological properties of 1,5-benzodiazepines of medicinal interest: a review. *Pinnacle Medicine & Medical Sciences*, 1, 2014.
- Soltaninejad K, Karimi M., Nateghi A, Darael B. Simultaneous Determination of Six Benzodiazepines in Spiked Soft Drinks by High Performance Liquid Chromatography with Ultra Violet Detection (HPLC-UV). *Iran J Pharm Res.*, 15, 457-463, 2016.
- Souri E, Farahani AD, Ahmadkhaniha R, Amini M. A stability indicating HPLC method for the determination of clobazam and its basic degradation product characterization. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22, 1-7, 2014.

Sreeram V, Abbaraju VDNK. New validated hplc method for the estimation of bromazepam in pharmaceutical formulation. *International Journal of Applied Pharmaceutical and Biological Research*, 2, 61-66, 2017.

Szatkowska P, Koba M, Koslinski P, Wandas J, Baczek T. Analytical methods for determination of benzodiazepines: a short review. *Central European Journal of Chemistry*, 12, 994-1007, 2014.

Sternbach, LH. 1,4-Benzodiazepines: chemistry and some aspects of the structure activity relationship. *Angew. Chem. Internat. Edit.*, 10, 4-43, 1971.

Švidrnoch M., Boranova B, Tomková J, Ondra P, Maier V. Simultaneous determination of designer benzodiazepines in human serum using non-aqueous capillary electrophoresis – Tandem mass spectrometry with successive multiple ionic – Polymer layer coated capillary. *Talanta*, 176, 69-76, 2018.

Thakur M, Ojha L, Thakur A., Solanki, BK. Study of active site and SAR of some benzodiazepines. *Journal of Computational Biology and Bioinformatics Research*, 2, 10-19, 2010.

Thangadurai S, Karthikprabu B, Tamilarasan A. Simultaneous method for the separation and identification of certain benzodiazepine drugs in pharmaceutical formulations by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Forensic Res Criminol Int J.*, 5, 1-10, 2017.

Trawinski J, Skibinski R. Studies on photodegradation process of psychotropic drugs: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 1152-1199, 2017.

Tulja RG, Gowri SD, Kadgapath P, Satyanarayana, B. Development of an RP-HPLC method for the simultaneous estimation of propranolol hydrochloride and diazepam in combined dosage form. *Ind J Pharm Edu Res*, 45, 296-300, 2011.

Uddin MN, Samanidou VF, Papadoyannis IN. Development and validation of an HPLC method for the determination of benzodiazepines and tricyclic antidepressants in biological fluids after sequential SPE. *Journal of Separation Science*, v. 31, n. 13, p. 2358-2370, 2008.

Uddin MN, Samanidou VF, Papadoyannis IN. HPLC method for simultaneous determination of 1,4-benzodiazepines and tricyclic antidepressants in pharmaceutical formulations and saliva - a useful tool in medicinal chemistry. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 32, 2009.

Uma MK, Rami RYV, Rambabu C. New validated spectrophotometric methods for the estimation of clobazam in pure and formulations. *Anal Chem Ind J.*, 16, 2016.