

Diseño de estrategias para la determinación de benzodiazepinas empleando *quenching* de fluorescencia

Zamora L.^a, Peralta C.^a, Acosta G.^a, **Fernández L.^{a*}**

^a Instituto de Química de San Luis (INQUISAL-CONICET),
Universidad Nacional de San Luis, Chacabuco y Pedernera 5700
San Luis, Argentina.

*e-mail: lfernand@unsl.edu.ar

Los contaminantes emergentes son sustancias químicas que llegan al medioambiente a consecuencia de diferentes actividades humanas y que persisten allí generando alteraciones en el metabolismo de los seres vivos y en la salud humana en particular. De todos los contaminantes emergentes, los que probablemente suscitan mayor preocupación y estudio en los últimos años son los fármacos (metabolitos secundarios, disruptores endocrinos y drogas de abuso). Dentro de este grupo se encuentran las benzodiazepinas (BDZ), que son fármacos que permiten aumentar la actividad de diferentes neurotransmisores, reduciendo así el funcionamiento de ciertas áreas del cerebro, razón por la cual producen somnolencia, descenso de la ansiedad y relajación muscular^{1,2}. En el presente trabajo se propone una nueva estrategia para la determinación indirecta de tres BDZs (alprazolam (ALP), clonazepam (CNZ) y diazepam (DZP)) mediante la atenuación que generan en la señal fluorescente (efecto *quenching*) de la molécula de seroalbúmina bovina (BSA).

Se estudiaron diferentes parámetros experimentales que influyen en el efecto de *quenching* de las BDZs sobre la BSA ($\lambda_{ex} = 280$ nm, $\lambda_{em} = 340$ nm, slits: 5/5). Esto es: pH, concentración de BDZs/BSA, concentración y naturaleza de buffer, presencia de exaltadores de la señal (tensoactivos de diversa naturaleza). El efecto de *quenching* (estático) sobre la emisión fluorescente de BSA fue descrito por la ecuación de Stern-Volmer^{3,4} siendo los valores de las constantes obtenidas bajo las condiciones óptimas (K_{sv}) de $3,77 \times 10^3$ L mol⁻¹ (DZP); $9,07 \times 10^3$ L mol⁻¹ (ALP) y $1,78 \times 10^4$ L mol⁻¹ (CNZ) a temperatura ambiente. Se evidenció una tolerancia adecuada con un límite de detección de $3,2 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Las curvas de calibrado presentan una buena linealidad en las condiciones ensayadas.

Las estrategias diseñadas serán incluidas dentro de un esquema automatizado combinando una técnica separativa como HPLC a fluorescencia molecular. Este esquema permitirá la determinación simultánea de diferentes BDZs como potenciales contaminantes emergentes en muestras ambientales con adecuada sensibilidad, minimizando el consumo de reactivos y el tiempo de muestreo.

¹Dinamarca F, Grifell M, Palma A, Ventura M, Fornís I, Galindo L, Gonzalez L, Torrens M, Perez V, Eur. Neuropsychopharmacol., 26 (2016) s699.

²Fernandez-Quintana A, Méndez-Iglesias R, Novo-Ponte A, Quiroga-Fernández C, Eur. Neuropsychopharmacol., 27 (2017) s1098.

³Machicote RG, Pacheco ME, Bruzzone L, Spectrochim. Acta Part A 77 (2010) 466.

⁴Alesso M, Fernández LP, Microchem. J. 127 (2016) 165.

Agradecimientos: a la Universidad Nacional de San Luis (Proyecto 02-1016) y al INQUISAL – CONICET (Instituto de Química de San Luis–Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, PIP – CONICET 11220130100605).