

Safija Herenda^{1*}, Edhem Hasković²,
Denis Hasković³, Ena Deljić⁴

¹Univerzitet u Sarajevu, Prirodno-matematički fakultet, Odsjek za hemiju, Sarajevo, R.BiH, ²Univerzitet u Sarajevu, Prirodno-matematički fakultet, Odsjek za biologiju, Sarajevo, R.BiH, ³Univerzitet u Sarajevu, Klinički centar, Organizaciona jedinica Klinička patologija, citologija i humana genetika, Sarajevo, R.BiH, ⁴Univerzitet u Sarajevu, Klinički centar Organizaciona jedinica Klinička biohemija sa imunologijom, Sarajevo, R.BiH

Naučni rad

ISSN 0351-9465, E-ISSN 2466-2585

UDC: 615.22: 681.527.74

doi: 10.5937/zasmat2002128H



Zastita Materijala 61 (2)
128 - 132 (2020)

Pregled: Ispitivanje elektrohemijskih osobina beta blokatora i ACE inhibitora metodom ciklične voltometrije

IZVOD

Hipertenzija je najčešća kardiovaskularna bolest u razvijenim zemljama i u zemljama u razvoju koja utiče na oko 20-30% odrasle populacije. Riječ je o nezavisnom faktoru rizika za kardiovaskularne bolesti i povezan je sa povećanom učestalosti moždanog udara i koronarne bolesti srca. Da bi se kontrolisali faktori rizika u svijetu se koristi nekoliko vrsta antihipertenzivnih lijekova. Perindopril je jedan od lijekova koji se koristi za liječenje visokog krvnog pritiska, srčane insuficijencije ili stabilne bolesti koronarne arterije. Metoprolol je kardioselektivni blokator beta1-adrenergičnih receptora u srcu. Oni blokiraju dejstvo adrenalina i noradrenalina na beta adrenergične receptore u tijelu. Dosadašnja naučna istraživanja iz oblasti elektrohemije omogućila su razvoj osjetljivih, pouzdanih i jeftinijih instrumenata koji imaju značajan doprinos u oblasti razvoja lijekova i analize. Cikličnom voltametrijom ispitujemo samu aktivnost lijeka, uticaj koncentracija kao i uticaj različitih brzina skeniranja. Došli smo do zaključka da se sa povećanjem koncentracije i Perindopriila i Metoprolola, uočava povećanje strujnog pika u oblasti redukcije.

Ključne riječi: Beta blokator, ACE inhibitor, ciklična voltometrija.

1. UVOD

Kardiovaskularne bolesti su bolesti srca i krvnih sudova uz hronične uslove i štete prouzrokovane brojnim fizičkim, hemijskim i drugim štetnim agensima koji utiču na ljude u određenim uslovima, kako fizičkim, tako i biološkim, kao i društveno-ekonomskim faktorima životne sredine. Najčešći uzroci kardiovaskularnih oboljenja su infektivni agensi različitog porijekla koji uzrokuju brojne promjene u kardiovaskularnom sistemu, urođene srčane mane, preležana reumatska groznica, neka zarazna oboljenja kao što je difterija, hipertenzija, stres, faktori vanjskog okruženja, i ishrana koja ima važnu ulogu itd.

Beta - blokatori predstavljaju skupinu lijekova koji se koriste za liječenje hipertenzije, tj. povišenog krvnog pritiska. Oni blokiraju dejstvo adrenalina i noradrenalina na beta adrenergične receptore u tijelu. Jedan od osnovnih predstavnika beta - blo-

katora je Metoprolol koji je kardioselektivni blokator beta1-adrenergičnih receptora u srcu. Važna uloga beta-blokatora jeste i u tome što oni blokiraju oslobađanje renina, hormona kojeg luče bubrezi, a koji uzrokuje sužavanje krvnih sudova [1].

Inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE inhibitori) su lijekovi koji inhibiraju sintezu angiotenzina (Ang II) i pripadaju lijekovima prvog izbora za terapiju cirkulatornih i metaboličkih disfunkcija, uključujući hipertenziju i dijabetes melitus. S druge strane, dejstvo ACE inhibitora da povećavaju raspoloživost NO i sljedstveno smanjenje rizika od oksidativnog stresa je jedan od značajnih farmakoloških mehanizama koji liječe u osnovi njihovog protektivnog dejstva. ACE-inhibitori snižavaju arterijski pritisak smanjujući periferni vaskularni otpor bez kompenzacijskog povišenja srčane frekvencije, promjene osjetljivosti baroreceptora ili pojave refleksne tahikardije. Dokazano je da ACE inhibitori imaju antiaterosklerotične i antimtrombogene efekte, poboljšavaju endotelnu disfunkciju i sprečavaju preobražaj srca kod pacijenata sa koronarnim srčanim oboljenjima. U tom smislu, perindopril, koji ima relevantno visok afinitet za ACE i istinsko 24-satno trajanje dejstva, jedan je od najobuhvatnijih istraživanih ACE inhibitora. Najnoviji

*Autor za korespondenciju: Safija Herenda

E-mail: islamovic.safija@gmail.com

Rad primljen: 9.02.2020.

Rad prihvaćen: 5.03.2020.

Rad je dostupan na sajtu: www.idk.org.rs/casopis

podaci ukazuju na to da ACE inhibitori smanjuju arterijsku krutost, nezavisni faktor rizika za kardiovaskularne događaje i imaju blagotvorno dejstvo na centar aorte krvnog pritiska (BP). Pored kardiovaskularnih bolesti, perindopril se može upotrebljavati i za plućnu hipertenziju [2]. Kod plućne hipertenzije povećanje plućne arterije pritisak je posljedica promjena u plućnoj vaskularnoj strukturi i abnormalne plućne vazokonstrikcije [3-4]. Trenutno liječenje ove bolesti uključuje upotrebu vazodilatorskih lijekova koji se suprotstavljaju abnormalnom vazokonstrikciji. Jedna grupa lijekova koja može imati ovo svojstvo su upravo inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima jer sprječavaju stvaranje mitogena glatkih mišića [5]. Metodom ciklične voltametrije proučavaju se procesi oksidacije i redukcije u različitim sredstvima, proučavaju se adsorpcijski procesi na površinama i mehanizmi prenosa elektrona na hemijski modificiranim površinama elektroda [6]. Ciklična voltametrija predstavlja tehniku koja se sve češće koristi za analiziranje ponašanja lijekova. Odziv metoprolola i peridopрила na glassy carbon (GC) elektrodi se mjeri kao funkcija narinutog potencijala. U cikličnoj voltametriji treba imati na umu da signal pobune mijenja smijer i to na način da prvo raste od početnog potencijala, (E_{poc}) do nekog konačnog potencijala, E_{kon} , a zatim se opet vraća do početnog. Posljedica takvog načina namještanja potencijala jeste elektrohemijska reakcija na elektrodi koja se registruje kao struja potencijal kriva [7]. Elektrohemijske metode imaju primjenu u analizi lijekova zbog njihove visoke osjetljivosti, niske granice detekcije i drugih osobina [8]. Ovi

modaliteti uključuju direktno pretvaranje hemijskih informacija u signale u smislu struje, potencijala i naboja. Elektrohemijske metode vrlo su korisne za ispitivanje koncentracije elektroaktivnog analita na nivou tragova i daju korisne informacije o fizičkim i hemijskim svojstvima kao što su oksidacioni potencijal, koeficijent difuzije i brzina prenosa elektrona [9].

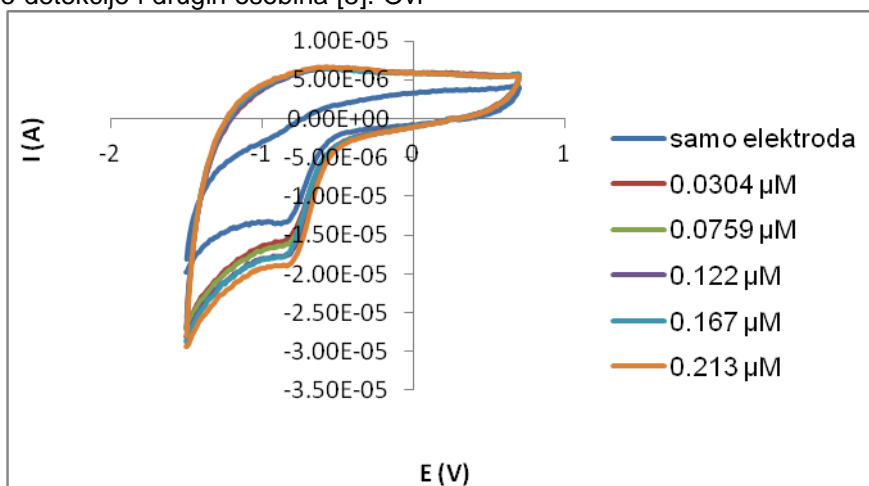
2. EKSPERIMENTALNI DIO

Materijali: Metoprolol (Hemofarm, Banja Luka); KH_2PO_4 i Na_2HPO_4 , Fisher Chemical (Wien, Austria); Perindopril (Bosnalijek, Bosna i Hercegovina).

Metode: Instrument koji je korišten za mjerenja je potenciostat/galvanostat PAR 263A sa klasičnim troelektrodnim sistemom u kojem je zasićena Ag/AgCl elektroda korištena kao referentna elektroda, Pt-elektroda kao kontra elektroda, a GC elektroda kao radna elektroda. Za mjerenje je korištena elektrohemijska metoda ciklična voltametrija. Ciklična voltametrija je korištena da se ispita uticaj različitih koncentracija supstrata na ispitivani lijek, kao i da se ispita debljina adsorbovanog filma na površini elektrode. Sva ispitivanja cikličnom voltametrijom su vršena u fosfatnom puferu (pH 7) i u rasponu potencijala od -1,5 do 0,7 V.

3. REZULTATI I DISKUSIJA

Prilikom ispitivanja redoks osobina aktivne supstance Metoprolola i Perindopрила u fosfatnom puferu, vršena su snimanja strujnog odziva pri konstantnoj brzini skeniranja od 50 mV/s.



Slika 1. Ciklični voltamogrami GC elektrode u prisustvu različitih koncentracija Metoprolola u fosfatnom puferu

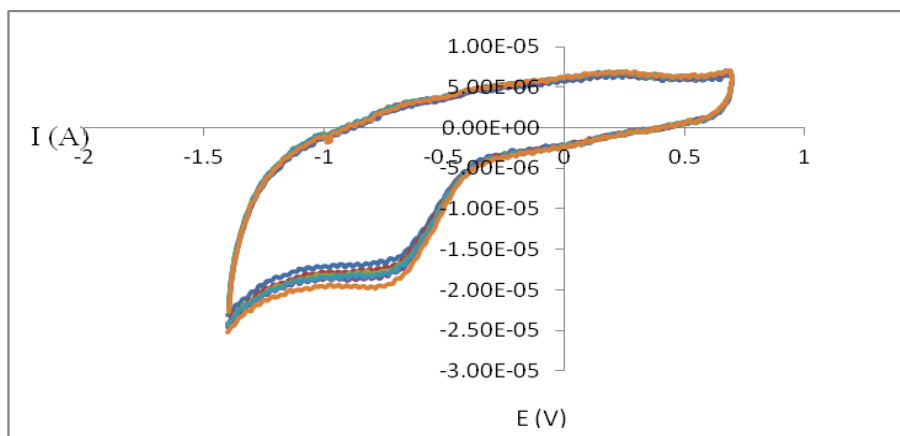
Figure 1. Cyclic voltammograms of GC electrode in the presence of different concentrations of Metoprolol in phosphate buffer

Na slici 1 vidimo da visina strujnog odziva zavisi od koncentracije oksidovanog ili redukovano oblika u rastvoru, broja izmijenjenih elektrona, po-

vršine radne elektrode i koncentracijskog gradijenta uz površinu elektrode. Redukcijski potencijali različitih koncentracija Metoprolola rastu respektivno i to: 0,0158; 0,0164; 0,0177; 0,0179, 0,0188 mV.

Mnogi autori su ispitivali različite doze Metoprolola koje utiču na promjenu potencijala. Autor *Okine i saradnici* ispitivali su doze Metoprolola od 50, 100, i 150 mg/kg na mikronukleus, gdje su došli do zaključka da rastu redukcijski potencijali sa porastom koncentracije [10]. Ispitivani su i strukturno slični beta blokatori, gdje im se potencijali mijenjaju u za-

visnosti od funkcionalne grupe koje imaju u svojoj strukturi [11]. Oksidacija i redukcija metoprolola prema autorima *Tasdemir i saradnici* očekuje se da se dešava na fenilskom prstenu [12]. Selektivnost i osjetljivost beta blokatora ispitivana je i metodom elektrohemiluminiscencije u uzorcima urina [13].



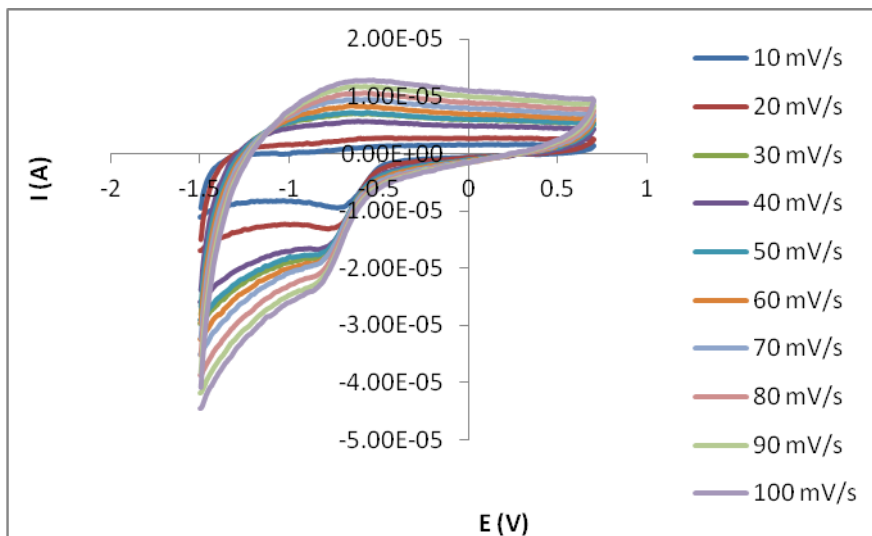
Slika 2. Ciklični voltamogram GC elektrode u prisustvu različite koncentracije aktivne supstance perindopрила u fosfatnom puferu: — 0 mg/mL; — $1,5987 \times 10^{-4}$ mg/mL; — $3,1948 \times 10^{-4}$ mg/mL; — $4,7885 \times 10^{-4}$ mg/mL; — $6,3795 \times 10^{-4}$ mg/mL; — $7,9681 \times 10^{-4}$ mg/mL

Figure 2. Cyclic voltammogram of GC electrode in the presence of different concentration of perindopril in phosphate buffer: — 0 mg/mL; — $1,5987 \times 10^{-4}$ mg/mL; — $3,1948 \times 10^{-4}$ mg/mL; — $4,7885 \times 10^{-4}$ mg/mL; — $6,3795 \times 10^{-4}$ mg/mL; — $7,9681 \times 10^{-4}$ mg/m

Na slici 2 vidimo isti slijed porasta i potencijala, a i porast strujnog pika u oblasti redukcije pri povećanju koncentracije aktivne supstance lijeka. Struja raste respektivno i to: 16,1; 17,3; 17,6; 17,7, 18,1 i 18,6 μ A. Povećanje struje i kod beta blokatora i ACE inhibitora govori o difuzijskim procesima na elektrodi. Proces koji se odvija na elektrodi za vrijeme mjerenja cikličkom voltametrijom mogu se prema brzini prenosa naboja svrstati u tri grupe: reverzibilni proces - prenos naboja je brži od difuzije, ireverzibilni proces - prenos naboja je jako spor u odnosu na difuziju i kvazireverzibilni proces - procesi koji se kod malih brzina promjena potencijala ponašaju reverzibilno, a porastom brzine pokazuju odstupanje od reverzibilnog ponašanja [14]. Na osnovu redukcijskih potencijala perindopрила primjećena je konverzija angiotenzina I u angiotensin II. Redoks svojstva i elektrohemijski parametri molekula lijeka mogu biti od presudne važnosti u razumijevanju mehanizma djelovanja. Osim kardiovaskularnih lijekova mnogi drugi lijekovi su elektrohemijski ispitivani zbog boljeg razumijevanja mehanizma vezivanja lijeka sa enzimom u organizmu.

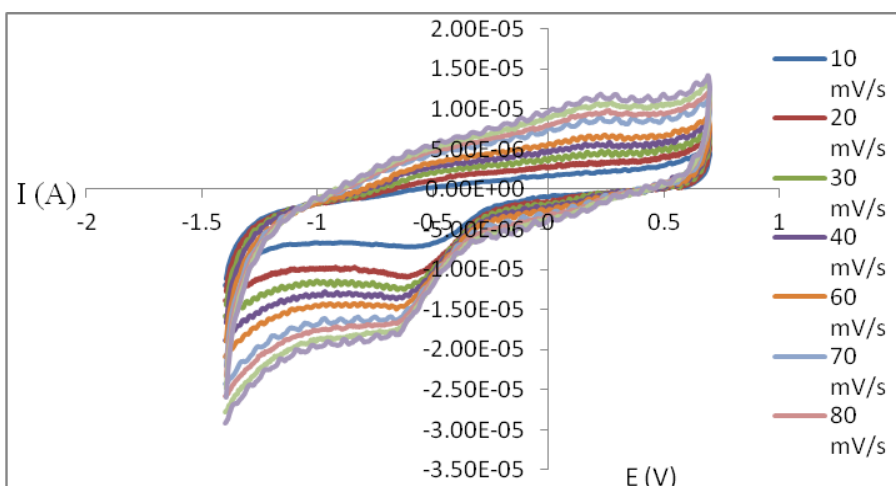
Autor *Tasdemir* je elektrohemijski ispitivao potencijal cefalosporina gdje je nasao dva ireverzibilna redukcijska pika na -0,5 V i -1,2 V [15].

Iz slikama 3 i 4 može se uočiti da porastom brzine struje dolazi do promjene izgleda cikličnog voltamograma, tj. dolazi do porasta separacije između anodnog i katodnog pika. Povećanjem brzine skeniranja dolazi do porasta vrijednosti anodnih i katodnih struja. Ova proporcionalnost je još jedan dokaz da su reakcije koje se odvijaju na površini GC elektrode kontrolisane difuzijom [1]. Ciklična voltometrija, odnosno njena analitička prednost, igra važnu ulogu u proučavanju farmakološki aktivnih spojeva i metabolita proizvedenih različitim metaboličkim putevima koji uključuju redoks reakcije. [16]. Elektrohemijski podaci razvijaju vezu između biološke aktivnosti i elektrodnih procesa lijekova koji pomažu da daju nagovještaje o mehanizmu djelovanja određenog lijeka i koreliraju s molekularnom strukturom i farmakološkom aktivnošću. Šta više, interakcija lijeka sa metalima, proteinima i drugim aktivnim komponentama također su proučavani korištenjem elektrohemijskih tehnika i metodom ciklične voltetrije sa različitim brzinama skeniranja [17].



Slika 3. Ciklični voltamogrami GC elektrode u fosfatnom puferu pri različitim brzinama skeniranja i prisustvu koncentracije Metoprolola $0,0304 \mu\text{M}$

Figure 3. Cyclic voltammograms of GC electrode in phosphate buffer at different scan rates and presence of Metoprolol concentration $0.0304 \mu\text{M}$



Slika 4. Ciklični voltamogrami GC elektrode u fosfatnom puferu pri različitim brzinama skeniranja i prisustvu koncentracije Perindopрила $7,9681 \times 10^{-4} \text{ mg/mL}$

Figure 4. Cyclic voltammograms of GC electrode in phosphate buffer at different scan rates and presence of Perindopril $7.9681 \times 10^{-4} \text{ mg / m}$

4. ZAKLJUČAK

U zaključku istraživanja ovog rada rastu redukcijski potencijali, ali i struje lijekova sa porastom njihove koncentracije. Na osnovu redukcijskih potencijala zaključeno da je angiotenzin II uključen u pulmonarnu vaskularnu kao i kardiovaskularnu hipertenziju. Rezultati potvrđuju da perindopril može ublažiti patološke promjene u *in vitro* uslovima u milimolarnim koncentracijama.

Time je utvrđeno da koncentracija beta-blokatora i ACE inhibitora ima značajan uticaj na kine-

tičke i redoks karakteristike. Različita struktura beta blokatora i ACE inhibitora daje različite redoks potencijale u zavisnosti od bolesti za koju se ti lijekovi koriste. Metabolički učinak hipertenzivnih lijekova može biti od posebnog značaja u dugoročnom liječenju esencijalnih hipertenzija.

5. LITERATURA

- [1] D. Hasković, E. Deljić, S. Herenda, E. Hasković (2019) Electrochemical determination of the redox potential of beta-blockers (Metoprolol), XXI YUCORR Tara, Serbia, proceedings, p. 229-232.

- [2] T. K. Jefery, J. C. Wanstall (1999) Perindopril, an angiotensin converting enzyme inhibitor, in pulmonary hypertensive rats: comparative effects on pulmonary vascular structure and function, *British Journal of Pharmacology*, 128, 1407 -1418.
- [3] L.M. Reid (1979) The pulmonary circulation; remodelling in growth and disease, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 119, 531-546.
- [4] A.T. Dinh-xuan (1993). Disorders of endothelium-dependent relaxation in pulmonary disease, *Circulation*, 87, 81-87.
- [5] S.P. Gaine, L.J. Rubin (1998) Primary pulmonary hypertension, *Lancet*, 352, 719 - 725.
- [6] A.J., Bard, L.R., Faulkner (2001) *Electrochemical methods: principles and applications*, *Electrochemical methods: Principles and Applications*, 386-428.
- [7] R.W., Murray (1984) Chemically modified electrodes, *Electroanalytical chemistry*, 13, 191-368.
- [8] V. S. Bagotsky (2006) *Fundamentals of Electrochemistry*; 2nd ed, Wiley Interscience, John Wiley & Sons Pub.: New Jersey.
- [9] R. Habibur, I. Hussaina, S. K. Manirul Haqueb (2015) Review on cyclic voltammetric and spectrophotometric approaches for the analysis of drugs (antihypertensive) using different electrodes and wavelength, *Der Pharma Chemica*, 7(12), 44-55.
- [10] L.I.N. Okjne, C. Ioannides, D. V. Parke (1983). Effect of some beta-adrenergic blocking agents on tissue guanylate cyclase and cyclic nucleotides in therat. *Toxicol. Lett.* 18, 235-240
- [11] C.D. JACKSON, L. FISHBEIN (1986) A Toxicological Review of Beta-Adrenergic Blockers, *Fundamental and Applied Toxicology* 6, 395-422.
- [12] S. L. Zorluoğlu, İ. H. Taşdemir, A. Ece, E. Kiliç (2013) A cooperative computational and experimental investigation on electrochemical behavior of metoprolol and its voltammetric determination, *Canadian Journal of Chemistry*, 91(10), 951-959.
- [13] J. Huang, J. Sun, X. Zhou, T. You (2007) Determination of Atenolol and Metoprolol by Capillary Electrophoresis with Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) Electrochemiluminescence Detection, *Analytical Sciences*, 23, 183-188.
- [14] P. Chen, R.L. McCreery (1996) Control of Electron Transfer Kinetics at Glassy Carbon Electrodes by Specific Surface Modification, *Anal. Chem.* 3958-3965.
- [15] İ. H. Tasdemir (2014) Electrochemistry and determination of cefdinirby voltammetric and computational approaches, *Journal of Food and Drug Analysis*, 22, (4), 527-536.
- [16] B. Blankert, J. M. Kaufmann (2010) *Reviews in Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, *Electro-analytical methods as tools for predictive drug metabolism studies*, Bentham Science Publishers, Sharjah, 6, 76.
- [17] M. R. Smyth, J. G. Vas (1992) *Analytical Voltammetry*; Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

ABSTRACT

REVIEW: INVESTIGATION OF THE ELECTROCHEMICAL PROPERTIES OF BETA BLOCKERS AND ACE INHIBITORS BY CYCLIC VOLTAMMETRY

Hypertension is the most common cardiovascular disease in developed and developing countries, affecting about 20-30% of the adult population. It is an independent risk factor for cardiovascular disease and is associated with an increased incidence of stroke and coronary heart disease. Several types of antihypertensive drugs are used worldwide to control risk factors. Perindopril is one of the medicines used to treat high blood pressure, heart failure or stable coronary artery disease. Metoprolol is a cardioselective beta1-adrenergic receptor blocker in the heart. They block the effect of adrenaline and noradrenaline on beta-adrenergic receptors in the body. Previous scientific research in the field of electrochemistry has enabled the development of sensitive, reliable and cheaper instruments that have significant contributions in the field of drug development and analysis. Cyclic voltammetry examines the activity of the drug itself, the effect of concentrations as well as the influence of different scan rates. We conclude that with an increase in the concentration of both Perindopril and Metoprolol, an increase in the current peak in the area of reduction is observed.

Keywords: Beta blocker, ACE inhibitor, cyclic voltammetry.

Scientific paper

Paper received: 09. 02. 2020.

Paper accepted: 05. 03. 2020.

Paper is available on the website: www.idk.org.rs/journal