

# Utjecaj vrste nanomaterijala i polimernog matriksa na voltametrijski odgovor mesalazina

---

Tandara, Marin

Master's thesis / Diplomski rad

2019

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:441422>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-31**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Marin Tandara**

**Utjecaj vrste nanomaterijala i polimernog matriksa  
na voltametrijski odgovor mesalazina**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Analitika lijekova Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za analitiku i kontrolu lijekova pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Biljane Nigović.

Želio bih zahvaliti svojoj mentorici prof. Biljani Nigović na pouzdanosti i ažurnosti prilikom mentorstva u izradi ovog diplomskog rada, te ostalim djelatnicima zavoda na ugodnom radnom okruženju.

# KRATICE

ATK	anatomsko-terapijsko-kemijska
BR	Britton-Robinson
CV	ciklička voltometrija
DPV	diferencijalno-pulsna voltometrija
EMA	Europska agencija za lijekove (engl. <i>European Medicines Agency</i> )
GC	staklasti ugljik (engl. <i>glassy carbon</i> )
GCE	elektroda od staklastog ugljika (engl. <i>glassy carbon electrode</i> )
GIT	gastrointestinalni trakt
MWCNT	višeslojne ugljikove nanocjevčice
NSAID	nesteroidni protuupalni lijek (engl. <i>non-steroidal antiinflammatory drug</i> )
SEM	skenirajuća elektronska mikroskopija (engl. <i>scanning electron microscopy</i> )
SWV	pravokutnovalna voltometrija (engl. <i>square-wave voltammetry</i> )

# SADRŽAJ

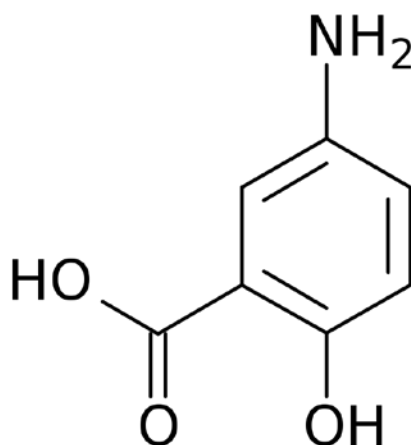
<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. MESALAZIN .....	2
1.2. ELEKTROANALITIČKE METODE .....	4
1.2.1. VOLTAMetriJA .....	4
1.2.1.1. CIKLIČKA VOLTAMetriJA .....	6
1.2.1.2. PRAVOKUTNOVALNA VOLTAMetriJA .....	9
1.2.2. KRUTE ELEKTRODE.....	10
1.2.2.1. ELEKTRODA OD STAKLASTOG UGLJIKA.....	11
1.2.3. NANOMATERIJALI .....	12
1.2.4. POLIMERNI NOSAČI.....	15
<b>2. OBRAZLOŽENJE TEME</b> .....	17
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	19
3.1. KEMIKALIJE .....	20
3.2. RADNI INSTRUMENTI .....	20
3.3. PRIPREMA OTOPINA I SUSPENZIJA .....	21
3.3.1. MATIČNA OTOPINA MESALAZINA .....	21
3.3.2. BRITTON-ROBINSON PUFER.....	21
3.3.3. RADNE OTOPINE MESALAZINA.....	21
3.3.4. SUSPENZIJE NANOMATERIJALA .....	22
3.4. PRIPREMA ELEKTRODA .....	23
3.5. UVJETI MJERENJA .....	23
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	24
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	36
<b>6. LITERATURA</b> .....	38
<b>7. SAŽETAK/SUMMARY</b> .....	42
<b>TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA</b>	
<b>BASIC DOCUMENTATION CARD</b>	

# 1. UVOD

## 1.1.MESALAZIN

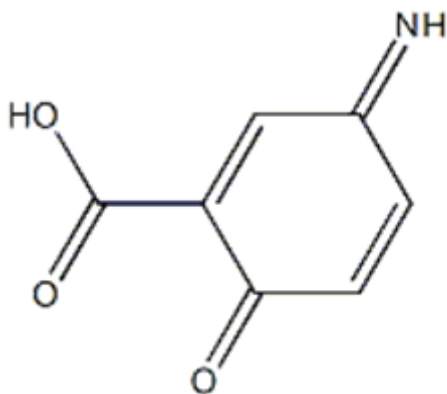
Mesalazin, odnosno mesalamin ili 5-aminosalicilna kiselina je protuupalni lijek koji se koristi u liječenju upalnih bolesti crijeva. Strukturno je sličan salicilatima i ostalim nesteroidnim protuupalnim lijekovima te je aktivni oblik sulfasalazina. Prema ATK klasifikaciji svrstava se u skupinu A07EC02, Probavni sustav i metabolizam – Antidijaroici, Intestinalni protuupalni/antiinfektivni lijekovi – Intestinalni protuupalni lijekovi – Aminosalicilna kiselina i slični lijekovi. Mesalazin pokazuje najveću korist u liječenju blagih do srednje teških akutnih pogoršanja ulcerativnog kolitisa, a osobito u održavanju remisije. Koristi se oralno u obliku gastro-rezistentnih tableta te rektalno u obliku supozitorija ili otopina, a djeluje lokalno na sluznicu gastro-intestinalnog trakta. Mehanizam djelovanja nije potpuno razjašnjen no vjeruje se da posjeduje protuupalno djelovanje na epitelne stanice debelog crijeva inhibirajući ciklooksigenazu i smanjujući stvaranje prostaglandina ([www.accessdata.fda.gov](http://www.accessdata.fda.gov)).

Gledano s fizikalno-kemijskog aspekta, mesalazin (5-aminosalicilna kiselina, slika 1.) je krutina bijele do bijelo-žute boje, bez mirisa. Molekulska formula spoja je  $C_7H_7NO_3$ , a molekulska masa iznosi 135.135 g/mol. Talište iznosi oko 250 °C a topljivost u vodi je 0.84 g/L ([www.pharmacopoeia.com](http://www.pharmacopoeia.com)).



Slika 1. Strukturna formula mesalazina ([www.drugs.com](http://www.drugs.com))

Oksidacijom na površini elektrode mesalazin gubi po jedan elektron i jedan proton na fenolnom kisiku i na amino skupini, tvoreći kinonimin (Slika 2). Taj gubitak elektrona bilježimo kao oksidacijski pik na voltamogramu.



Slika 2. Struktura oksidacijskog produkta mesalazina (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

Tablete s mesalazinom se koriste primarno za ublažavanje akutnih egzacerbacija ulcerativnog kolitisa, i to kod blagih do srednje teških oblika, te za održavanje remisije. Također, dodatna indikacija za mesalazin je ublažavanje akutnih egzacerbacija Chronove bolesti. Primjenjuju se jedan do četiri puta na dan ovisno o sadržaju aktivne tvari u tableti. Nakon uzimanja tablete, apsorbira se 20-30% aktivne tvari u krvotok, što nije povezano s aktivnošću lijeka jer je djelovanje mesalazina lokalno u crijevu. Nastup poboljšanja kliničkih simptoma obično slijedi u rasponu od 1 tjedna do 3 mjeseca trajanja terapije. Mesalazin se vrlo brzo metabolizira u sluznici GIT-a i jetri u *N*-acetil-5-aminosalicilnu kiselinu, koja je i glavni metabolit u krvotoku. Poluvrijeme eliminacije je 0.5-10 h za mesalazin, odnosno 2-15 h za *N*-acetil-5-ASA ([www.medscape.com](http://www.medscape.com)).

Oprez kod primjene potreban je kod pacijenata s preosjetljivošću na mesalamin ili salicilate te kod trudnica i dojilja. Također, potreban je oprez kod pacijenata s aktivnim peptičkim vrijedom te kod pacijenata s oštećenjem bubrega ili jetre ([www.medscape.com](http://www.medscape.com)).

U Hrvatskoj su registrirana dva lijeka centraliziranim postupkom od strane Europske agencije za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) pod nazivom Pentasa od proizvođača Ferring te Salofalk od proizvođača Dr. Falk Pharma. Oba lijeka dolaze u više različitih farmaceutskih oblika koji obuhvaćaju čepiće, suspenzije za rektum, želučanootporne tablete, te želučanootporne granule. Sadržaj mesalazina u navedenim lijekovima je u rasponu od 250 mg do 2 g ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).



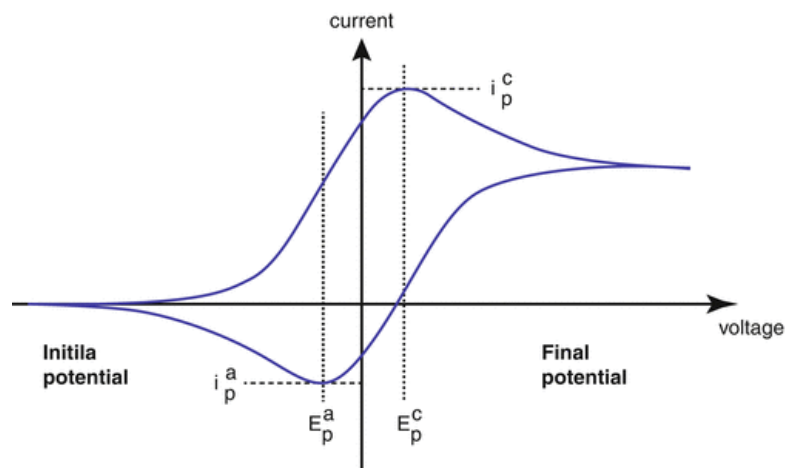
## 1.2. ELEKTROANALITIČKE METODE

Elektroanalitičke metode čine skupinu analitičkih metoda kod kojih se podatak o koncentraciji, aktivitetu ili drugom termodinamičkom svojstvu određivane molekulske vrste dobiva u ovisnosti o električnom naponu, struji ili naboju. Prema signalu pobude, čija je posljedica odvijanje elektrokemijske reakcije na radnoj elektrodi i mjerenoj varijabli iz koje se dobiva željeni analitički ili drugi podatak o ispitivanoj otopini, dijele se na: potenciometriju, voltometriju, kronoamperometriju, elektrogravimetriju, kulometriju, kronopotenciometriju i konduktometriju. Elektroanalitičke metode imaju široku primjenu u farmaciji. U ranoj fazi istraživanja i razvoja lijekova upotrebljavaju se u elektroorganskoj sintezi farmakološki zanimljivih molekula i u ispitivanju njihovog učinka korelacijom redoks potencijala i aktivnosti. Poznavanje mehanizma redoks reakcije može razjasniti mehanizam djelovanja lijeka i njegove biotransformacije reakcijama prijenosa elektrona. Elektroanalitičkim tehnikama može se pratiti interakcije lijekova s metalnim ionima, proteinima ili DNA.

Uspješno se primjenjuju za identifikaciju i određivanje ljekovitih tvari u različitim uzorcima, od farmaceutskih sirovina, različitih ljekovitih oblika, do bioloških tekućina nakon terapijskih doza. Uglavnom nije potrebno prethodno provesti postupke odjeljivanja, što je jedna od velikih prednosti elektroanalitičkih metoda. To su metode visoke osjetljivosti, točnosti i preciznosti. Omogućuju selektivnu detekciju ljekovitih tvari, pri čemu selektivnost ovisi o dostupnom rasponu potencijala elektroaktivnih tvari (Nigović i Behetić, 2007).

### 1.2.1. VOLTAMETRIJA

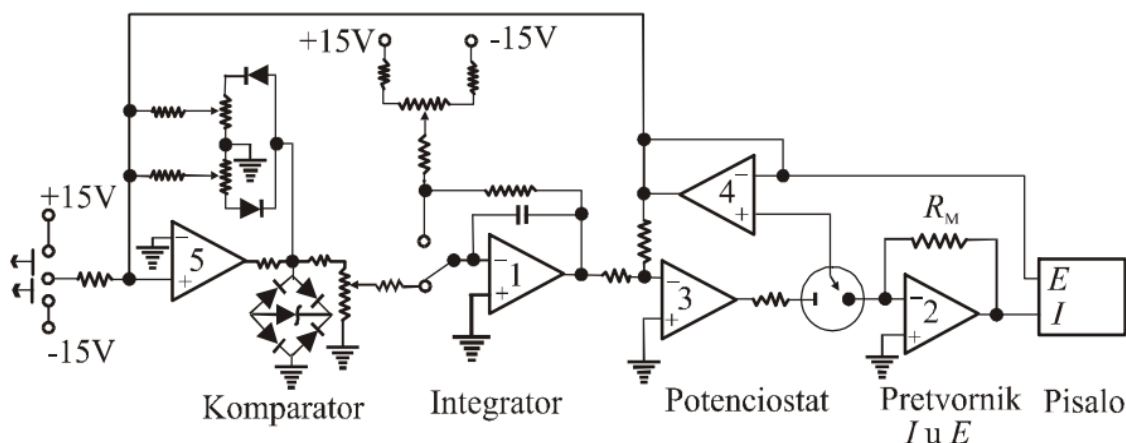
Voltometrija obuhvaća skupinu elektroanalitičkih tehnika koje su se počele razvijati otkrićem polarografije 1922. češkog kemičara Jaroslava Heyerovskog, dobitnika Nobelove nagrade 1959. godine. Voltometrija se temelji na mjerenju struje radne elektrode nastale kontinuiranim mijenjanjem njezinog potencijala. Prikaže li se ovisnost struje o potencijalu, dobiva se voltamogram (Slika 3).



Slika 3. Ciklički voltamogram (S. Blial, 2014.)

Zajednička značajka svih voltametrijskih tehnika je primjena potencijala ( $E$ ) na elektrodu i mjerenje posljedične struje ( $i$ ) koja teče kroz elektrokemijsku ćeliju. Vrlo često se primijenjeni potencijal mijenja, ili se struja mjeri u određenom vremenskom intervalu ( $t$ ), stoga se sve voltametrijske tehnike mogu opisati kao funkcije potencijala, struje ili vremena. Smatraju se aktivnim tehnikama, za razliku od pasivnih tehnika poput potenciometrije, zato što primijenjeni potencijal uzrokuje promjenu u koncentraciji elektroaktivne specije uz površinu elektrode putem oksidacije ili redukcije (Kounaves, 1997).

Osnovne su jedinice modernog voltametrijskog instrumenta, osim računala, potenciostat i elektrokemijski članak (slika 4). Zadaća je potenciostata nametnuti potencijal i izmjeriti jakost struje. Elektrokemijski članak služi kao nosač otopine analita u koju su uronjene elektrode. U voltametrijskim mjerenjima upotrebljavaju se tri elektrode: radna elektroda, pomoćna ili protuelektroda i referentna elektroda. Potencijal se mjeri između radne i referentne elektrode (kontrolira se signal pobude), a struja između radne i protuelektrode (mjeri se signal odziva). U voltametriji se upotrebljavaju elektrode koje konstantnom površinom osiguravaju reproducibilnost mjerenja (Nigović i Behetić, 2007).



Slika 4. Naprava za voltometriju (Piljac, 2010.)

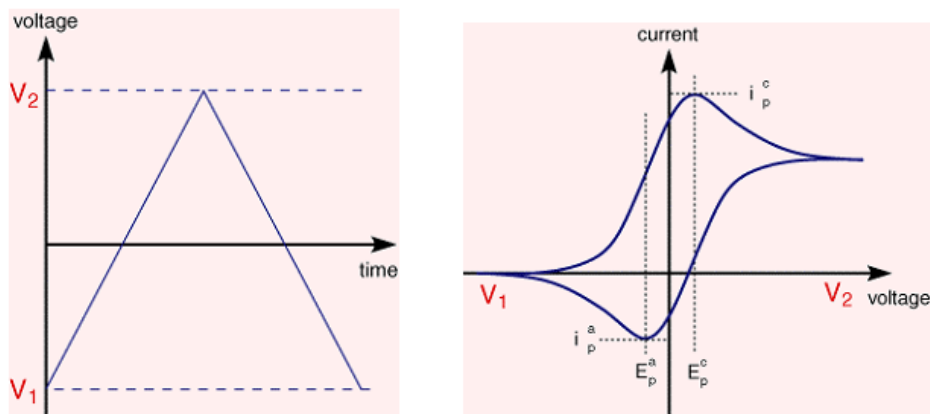
Voltometrijske metode primjenjuju se u kvantitativnoj analizi organskih i anorganskih tvari u vodenim i nevodenim medijima, za određivanje redoks potencijala, istraživanje kinetike i mehanizma redoks reakcija, kao i za elektrokemijsku detekciju eluiranih analita u tekućinskoj kromatografiji visoke djelotvornosti (HPLC) (Nigović i Behetić, 2007).

### 1.2.1.1. CIKLIČKA VOLTAMETRIJA

Ciklička voltometrija je postala važna i često korištena elektroanalitička tehnika u mnogim područjima kemije. Rijetko se koristi za kvantitativna određivanja, ali se uspješno koristi za istraživanje redoks procesa, razumijevanje reakcijskih intermedijera i za osiguravanje stabilnosti reakcijskih produkata (Kounaves, 1997).

Potencijal radne elektrode mijenja se linearno, a kada dosegne određenu vrijednost, mijenja se smjer promjene potencijala. Pritom se mjeri struja koja protječe kroz članak. Jakost struje će rasti kako se potencijal približava redoks potencijalu analita. Promjenom potencijala preko karakterističnog potencijala redoks procesa nastaje strujni vrh, a nakon tog dolazi do pada jakosti struje zbog smanjenja koncentracije analita u blizini elektrode. Povratkom potencijala na početnu vrijednost dolazi do oksidacije/redukcije produkata nastalih u prvoj polovici ciklusa. Oblik cikličkog voltamograma ovisi o brzinama prijenosa elektrona, prijenosa tvari i kemijskim reakcijama koje prate redoks reakcije (Nigović i Behetić, 2007).

Važni parametri cikličke voltametrije su potencijali vrha redukcije ( $E_p^c$ ) i oksidacije ( $E_p^a$ ) te vršne jakosti struje ( $i_p^c$  i  $i_p^a$ ) (Slika 5).



Slika 5. Potencijal kao funkcija vremena i jakost struje kao funkcija potencijala u CV (Adrienko, 2008.)

Potencijal vrha je karakteristika pojedinog spoja, a u korelaciji je s afinitetom primanja ili davanja elektrona istog spoja. Ako je brzina prijenosa elektrona puno brža od ostalih procesa u otopini poput difuzije, reakcija je reverzibilna, a broj izmijenjenih elektrona se može odrediti iz razlike potencijala vrhova prema jednadžbi (1):

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 2,303 \frac{RT}{nF} \quad (1)$$

pri čemu je  $\Delta E_p$  razlika između potencijala vrha oksidacije i redukcije,  $R$  opća plinska konstanta koja iznosi  $8,314 \frac{\text{J}}{\text{molK}}$ ,  $T$  apsolutna temperatura (izražena u K),  $n$  broj izmijenjenih elektrona, a  $F$  Faradayeva konstanta koja iznosi  $96485,34 \frac{\text{C}}{\text{mol}}$ . Pri uvjetima od  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  za reakciju prijenosa  $n$  elektrona  $\Delta E_p$  iznosi  $0,0592 \frac{\text{V}}{n}$ , odnosno  $59,2 \text{ mV}$  po jednom elektronu (Nigović i Behetić, 2007).

Randles-Ševčikova jednadžba (2) stavlja u odnos koncentraciju i jakost struje u slučaju reverzibilnih procesa, tj. iz nje slijedi da je vršna struja voltametrijskog vala ( $i_p$ ), a isto vrijedi za struju u bilo kojoj točki voltamograma, izravno proporcionalna koncentraciji elektroaktivne vrste u otopini:

$$i_p = (2,99 \times 10^5) n^{\frac{3}{2}} A c_0 D^{\frac{1}{2}} v^{\frac{1}{2}} \quad (2)$$

pri čemu je  $i_p$  vršna jakost struje izražena u amperima,  $A$  površina radne elektrode izražena u  $\text{cm}^2$ ,  $D$  difuzijski koeficijent izražen u  $\frac{\text{cm}^2}{\text{s}}$ ,  $c_0$  koncentracija analita u  $\frac{\text{mol}}{\text{cm}^3}$ ,  $v$  brzina promjene

potencijala u  $\frac{V}{s}$ , a  $n$  broj elektrona. Ova jednađba predstavlja temelj za primjenu voltametrije u kvantitativnoj elektrokemijskoj analizi (Piljac, 2010).

Ukoliko je redoks proces ireverzibilan, na cikličkom voltamogramu nedostaje povratni pik (Nigović, 2009), proces je karakteriziran sporijom izmjenom elektrona, pikovi su razdvojeni i manji,  $E_p$  se pomiče prema negativnijim (proces redukcije) ili pozitivnijim (proces oksidacije) vrijednostima povećanjem brzine promjene potencijala, a vršna jakost struje definirana izrazom (3):

$$i_p = (2,99 \times 10^5)n(\alpha n_a)^{\frac{1}{2}}Ac_0D_0^{\frac{1}{2}}v^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

gdje su  $n_a$  broj elektrona u koraku prijenosa naboja, a  $\alpha$  koeficijent prijelaza. Ostali parametri jednaki su kao i u Randles-Ševčíkovej jednađbi (Piljac, 2010), a iz jednađbe je vidljivo kako je vršna jakost struje i dalje proporcionalna koncentraciji.

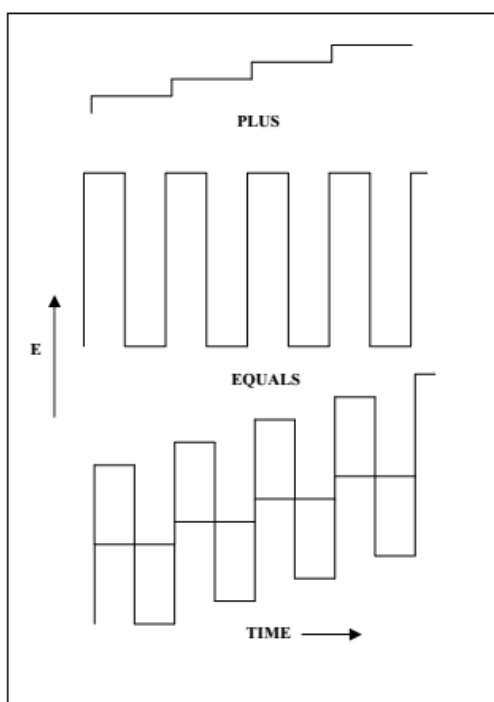
Cikličkom voltametrijom može se odrediti i reverzibilnost ili ireverzibilnost reakcije (kod ireverzibilnih reakcija potencijal vrha oksidacije ovisi o brzini promjene potencijala, dok kod reverzibilnih ne ovisi) (Piljac, 2010), kao i sudjelovanje protona u prijenosu elektrona putem nagiba pravca ovisnosti potencijala o pH.

Ciklička voltametrija se često koristi za proučavanje redoks mehanizama farmakološki aktivnih tvari kao jednostavan model metaboličkih redoks procesa. Proučavanje oksidacijsko-redukcijskog ponašanja lijekova može dati uvid u mehanizam njihovog djelovanja u bioloških sustavima, jer je većina metaboličkih puteva razgradnje lijekova upravljana upravo procesima prijenosa elektrona. Ciklička voltametrija se može koristiti za određivanje redoks potencijala biološki aktivnih spojeva i za istraživanje povezanosti između redoks potencijala i biološke aktivnosti (Nigović, 2009.).

### 1.2.1.2. PRAVOKUTNOVALNA VOLTAMETRIJA

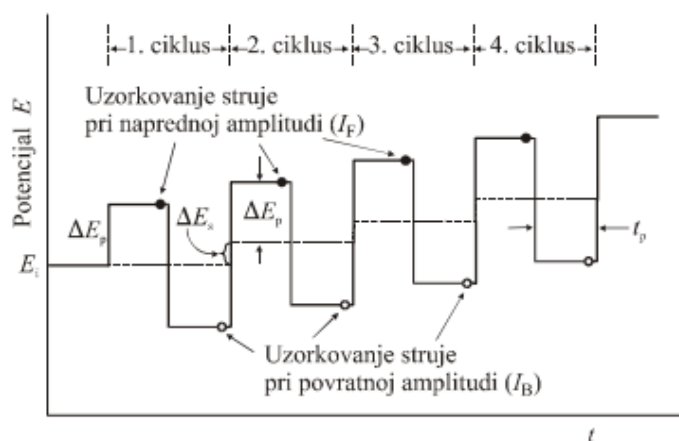
Pravokutnovalna voltometrija (SWV) je moćna elektrokemijska tehnika koja se može primijeniti u analitici, mehanicističkim proučavanjima procesa na elektrodi te elektrokinetičkim mjerenjima. U današnje vrijeme se smatra jednom od najrazvijenijih voltometrijskih tehnika, koja objedinjuje prednosti pulsni tehnika (povećana osjetljivost), cikličke voltetrije (uvid u redoks mehanizam) i tehnika impedancije (kinetičke informacije o brzim procesima na elektrodi).

Današnja SWV, integrirana u digitalne elektrokemijske instrumente, koristi kombinaciju stepeničaste promjene potencijala i periodičnu funkciju potencijala u obliku pravokutnog vala (Slika 6), primijenjenu na stacionarnu elektrodu (Mirceski, 2013.).



Slika 6. Prikaz stepeničaste i pravokutnovalne funkcije te njihove kombinacije (Princeton Applied Research 2012.)

Struja se mjeri dvaput tijekom jednog ciklusa: pri kraju trajanja pozitivne ( $I_f$ ) i negativne poluperiode ( $I_b$ ) izmjeničnog pravokutnog pulsa, a jakost struje na voltamogramu prikazana je kao razlika struja pri negativnoj, odnosno pozitivnoj poluperiodi izmjeničnog pravokutnog signala pobude za svaki od ciklusa pobude (Piljac, 2010).



Slika 7. Prikaz signala pobude i vremena uzorkovanja struje u pravokutnovalnoj voltametriji (Piljac 2010.)

Najveća je prednost pravokutnovalne voltametrije njezina velika brzina. Frekvencije od 1 do 100 ciklusa u sekundi dopuštaju upotrebu ekstremno brzih promjena potencijala. Vrijeme analize time se skraćuje te cijeli voltamogram može biti snimljen za nekoliko sekundi (Nigović i Behetić, 2007.).

U novije vrijeme, pravokutnovalna voltametrija je postala povoljnija alternativa skupljim i zahtjevnijim tehnikama, poput kromatografije i spektrofotometrije, za određivanje anorganskih i biološki važnih spojeva. Jedna od najvrjednijih značajki pravokutnovalne voltametrije je mogućnost istovremenog određivanja spojeva sličnih struktura prisutnih u raznim farmaceutskim i biološkim uzorcima (Mirceski, 2013.).

Neke od primjena pravokutnovalne voltametrije su istovremeno određivanje paracetamola i penicilina (Svorc i sur., 2012.), određivanje askorbinske kiseline, paracetamola i triptofana (Ensafi i sur., 2012.) te za određivanje askorbinske kiseline, dopamina i urata (Tian i sur., 2012.).

## 1.2.2. KRUTE ELEKTRODE

Izvedbene karakteristike voltametrijskih tehnika su u velikoj mjeri pod utjecajem značajki materijala koji sačinjava radnu elektrodu, poput kemijskih i fizičkih svojstava površine elektrode, primijenjenog potencijala te adsorpcije i modificirajućih slojeva koji

prekrivaju površinu elektrode i poboljšavaju detekciju. Kada se uzmu u obzir dosadašnji rezultati istraživanja u području elektroanalitike i njena primjena, može se zaključiti da se krute elektrode općenito mnogo koriste i da su vrlo praktična vrsta elektroda (Uslu, Ozkan, 2007.).

Usprkos činjenici da je površinu krutih elektroda teško reproducibilno kontrolirati, krute elektrode imaju značajne prednosti u usporedbi sa živinim elektrodama. Velik broj krutih elektroda se tijekom godina koristio u brojnim voltometrijskim istraživanjima. Njihova rastuća popularnost se može pripisati činjenici da se oksidacija brojnih organskih spojeva ne može proučavati na živinim elektrodama zbog ograničenog anodnog raspona potencijala. Također, rukovanje krutim elektrodama je puno lakše, tako da se one mogu koristiti u protočnoj analizi zbog velike mehaničke stabilnosti i čvrstoće (Uslu, Ozkan, 2007.).

Važan čimbenik kod korištenja krutih elektroda je ovisnost odgovora o površinskom stanju elektrode. Sukladno tome, uporaba takvih elektroda zahtijeva detaljnu predobradu te poliranje same elektrode kako bi se dobili reproducibilni rezultati. Mehaničko poliranje se najčešće koristi za metalne elektrode, dok se za ugljikove elektrode koriste razni kemijski, elektrokemijski ili termalni postupci (Wang, 2001).

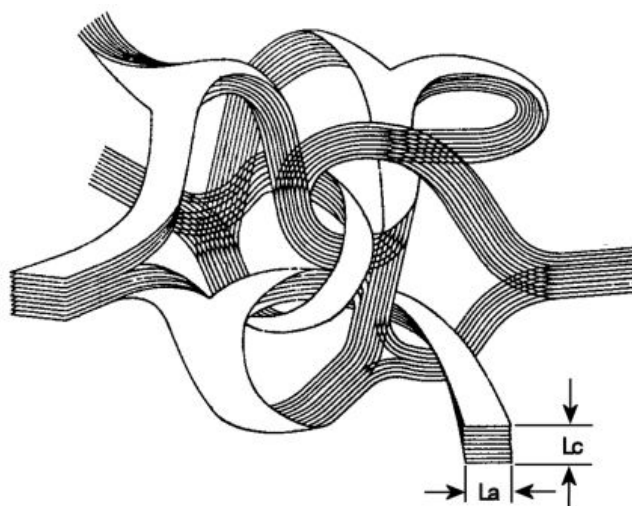
Krute elektrode ponajviše se primjenjuju za oksidacijske procese, a neke od korištenijih su elektroda od staklastog ugljika, dijamantna elektroda s primjesama bora, ugljikova, platinska, zlatna itd. (Nigović i Behetić, 2007).

### 1.2.2.1. ELEKTRODA OD STAKLASTOG UGLJIKA

Krute elektrode građene od ugljika su u širokoj upotrebi u elektroanalitici, ponajprije zbog njihovog širokog raspona primjenjivog potencijala, niske pozadinske struje, bogate površinske struje, niske cijene, kemijske inertnosti i primjenjivosti u mnogim kvalitativnim i kvantitativnim metodama. Iako svi materijali koji sačinjavaju ugljikove elektrode sadrže temeljnu strukturu šesteročlanog aromatskog prstena i  $sp^2$  hibridizaciju, razlikuju se u relativnoj gustoći na svojim površinama te posljedično i u kinetici prijenosa elektrona. Najpopularniji ugljikovi materijali u primjeni uključuju staklasti ugljik, ugljikovu pastu, ugljikova vlakna, film, trake, grafit impregniran voskom i druge (Wang, 2001).



Staklasti ugljik (engl. *glassy carbon*, GC) je popularan materijal zbog odličnih mehaničkih i električnih svojstava, širokog raspona potencijala, kemijske inertnosti i reproducibilnosti. Materijal se priprema pažljivo kontroliranim grijanjem polimerne smole u inertnoj atmosferi. Strukturno, staklasti ugljik se sastoji od tankih i smotanih trakica poprečno povezanih slojeva grafita (slika 8).



Slika 8. Struktura staklastog ugljika (Jenkins i Kawamura, 1971)

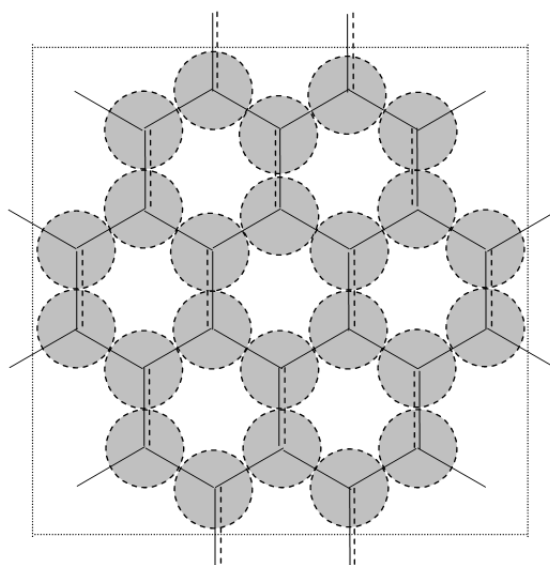
Zbog svoje velike gustoće i male veličine pora nije potreban postupak impregnacije. No predobrada se obično koristi kako bi se stvorila aktivna i reproducibilna površina staklastog ugljika te za povećanje analitičkih izvedbenih značajki. To se obično postiže poliranjem sa sve manjim česticama aluminija na krpici za poliranje. Nakon toga se elektroda ispire deioniziranom vodom prije upotrebe. Dodatni elektrokemijski, kemijski, toplinski ili laserski postupci aktivacije se također mogu primijeniti (Wang, 2001).

### 1.2.3. NANOMATERIJALI

Primjena nanotehnologije je u novije vrijeme postala vrlo učestala u području senzora. Nanotehnologija podrazumijeva stvaranje i korištenje materijala na razini atoma, molekula i supramolekularnih struktura. Mala veličina, nevjerojatna svojstva i jedinstvena optička apsorpcija čine ugljikove nanomaterijale prilično korisnima za terapijske primjene, razvoj farmaceutskih oblika, selektivno uništavanje stanica raka te u analitici (Kurbalangu, Ozkan, 2018). Iako se brojne karakteristike različitih ugljikovih nanomaterijala međusobno razlikuju, zajedničke su im zanimljive značajke koje ih čine vrlo korisnima za stvaranje elektrokemijskih senzora i biosenzora. Zajednička svojstva uključuju intrinzičnu

elektrokemijsku aktivnost, visoku električnu vodljivost, veliku specifičnu površinu, lako funkcionaliziranje i biokompatibilnost. (Sinha i sur., 2018) Nanomaterijali koji su zadobili najviše pozornosti u istraživanju su različiti oblici ugljika (npr. nanocjevčice, nanovlakna, fuleren, grafen, ugljikova točka, nanodijamant itd.)

Grafen se smatra jednim od najviše proučavanih ugljikovih materijala s jedinstvenim katalitičkim svojstvima. Sa  $sp^2$  vezanim ugljikovim atomima, sadrži strukturu šesterokutne slagaline (slika 9) s velikim brojem delokaliziranih  $\pi$  elektrona.

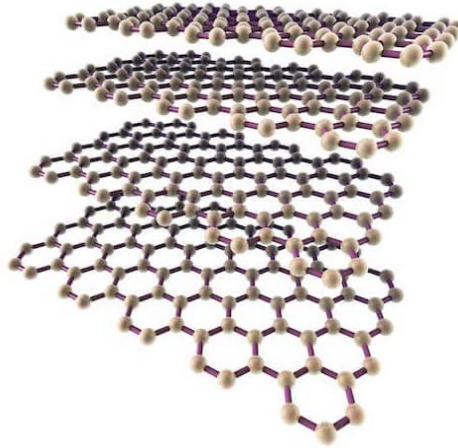


Slika 9. Shematski prikaz strukture grafena (Heyrovska, 2008.)

Grafen je najtanji poznati materijal s debljinom od jednog atoma. Iznimno je snažan, oko 200 puta jači od čelika. Izuzetno dobro provodi toplinu i elektricitet te posjeduje specifične mogućnosti apsorpcije svjetlosti. Grafen je inertan, ali može „apsorbirati“ različite atome i molekule što mijenja njihova elektronska svojstva pa se koristi pri izradi senzora. Također se modificira različitim kemijskim skupinama pa nastanu različiti materijali kao što je grafen oksid ([www.graphene-info.com](http://www.graphene-info.com)).

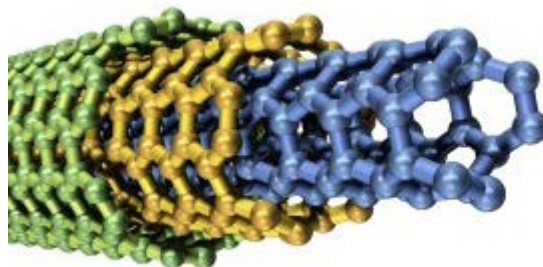
Nanopločice grafena (*eng. graphene nanoplatelets*; GNP) su građane od jednog ili nekoliko slojeva grafena pomiješanih sa grafitom, stoga su po strukturi između grafena i grafita (slika 10). Debljinom variraju od 0.34 do 100 nm unutar jedne proizvodne serije. Imaju mnoga zanimljiva svojstva, poput dobre električne i toplinske vodljivosti, mehaničke čvrstoće, niske cijene, male relativne gustoće i niske cijene. Zbog toga često mijenjaju druga nanostrukturirana punila u istraživanju materijala, poput ugljikovih nanocjevčica, metalnih

nanočestica i gline. Prikladni su za nanokompozitne materijale, jer se mogu lako i uspješno uklopiti u polimerne matrikse otapanjem ili taljenjem. Grafitne nanopločice su jeftinije nego ugljikova nanovlakna i nanocjevčice, a slično utječu na mehanička svojstva polimera. Uz to, električna vodljivost grafitnih nanopločica je nekoliko redova veličine bolja od električne vodljivosti grafen oksida (Cataldi i sur., 2018).



Slika 10. Prikaz slojevite strukture grafitnih nanopločica (www.cheaptubes.com)

Višeslojne ugljikove nanocjevčice (*eng. multi-walled carbon nanotubes; MWCNTs*) su izduženi cilindrični nanoobjekti sačinjeni od  $sp^2$  vezanog ugljika (slika 11). Imaju promjer od 3 do 30 nm, a duljina im može biti do nekoliko centimetara. (Kukovecz, 2013) U posljednje vrijeme se mnogo proučavaju kao obećavajuć materijal zbog visoke mehaničke čvrstoće, Youngovog modulusa, termalne i električne vodljivosti te kemijske stabilnosti. Uvođenjem ugljikovih nanocjevčica u polimerni matriks poboljšavaju se svojstva materijala poput mehaničke čvrstoće, električne vodljivosti, otpora prema lomu, te različita elektromagnetna svojstva (I. N. Mazov i sur., 2011).

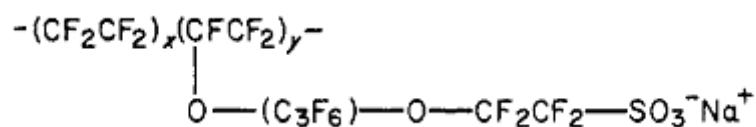


Slika 11. Prikaz strukture višeslojnih grafitnih nanocjevčica (www.cheaptubes.com)

#### 1.1.4. POLIMERNI NOSAČI

Glavna prepreka kod razvoja elektrode modificirane ugljikovim nanomaterijalima je niska topljivost nanomaterijala u većini poznatih otapala. Tek nakon kovalentne funkcionalizacije ili nekovalentne modifikacije su ugljikovi nanomaterijali uspješno dispergirani u otapalima poput acetona, etanola, sumporne kiseline i dr. Prednost korištenja nekovalentne modifikacije polimernim aditivima za poboljšanje topljivosti ugljikovih nanomaterijala je ta, što polimerni materijali ne pogoršavaju fizikalna svojstva ugljikovih nanomaterijala. Kombiniranjem prikladnog ugljikovog nanomaterijala i polimernog nosača koji promovira elektrokemijske procese poput Nafiona ili kitozana, stvorena je nova vrsta elektroanalitičkog filma jednostavnim procesom otparavanja otapala (Y.C. Tsai i sur., 2004).

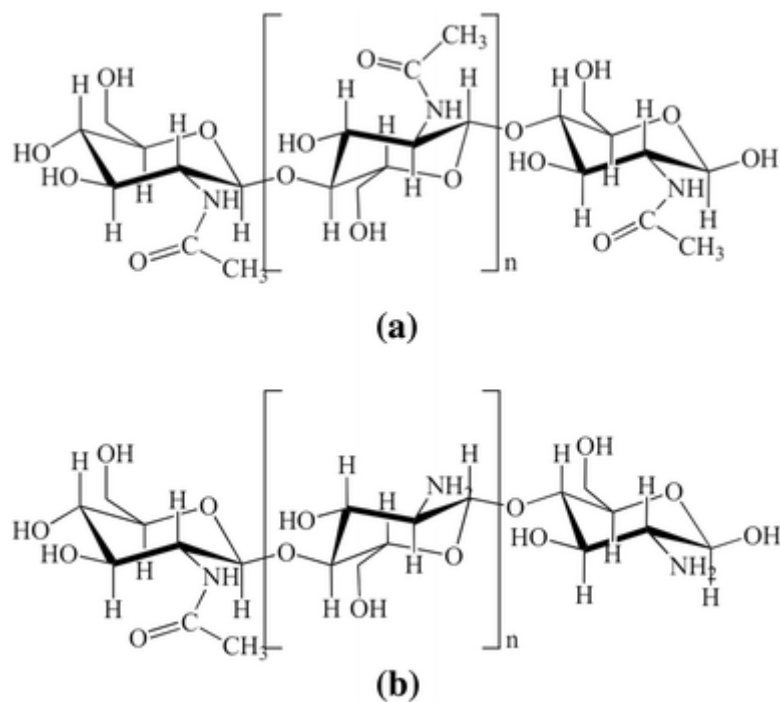
Nafion je perfluorirani sulfonirani kationski izmjenjivač koji se naširoko koristi kao modifikator elektroda zbog svojih zanimljivih značajki kao ionski izmjenjivač, termalne stabilnosti, kemijske inertnosti, mehaničke čvrstoće i konzervirajućih svojstava. (Y.C. Tsai i sur., 2004) Struktura Nafiona je takva, da se na tetrafluoro etilenski polimer (Teflon) spajaju perfluoroeterski ogranci s terminalnom sulfonskom kiselinom (Slika 12). S iznimkom sulfonske kiseline, Nafion je polimer fluorougljika. Poput većine fluoropolimera, iznimno je rezistentan na kemijske reakcije. Sulfonska kiselina je imobilizirana unutar fluorokarbonskog matriksa i ne može se ukloniti, no za razliku od fluorokarbonskog matriksa, sulfonska skupina sudjeluje u kemijskim reakcijama. Zbog prisutnosti sulfonske skupine Nafion djeluje kao kiseli katalizator te kao ionski izmjenjivač. Budući da svaka sulfonska skupina može vezati 13 molekula vode na sebe, Nafion je vrlo higroskopan te djeluje kao vrlo selektivna polupropusna membrana za vodu ([www.permapure.com](http://www.permapure.com)).



Slika 12. Struktura Nafiona (G.A. Olah i sur. 1980)

Kitozan je vrsta biopolimera koji pokazuje karakteristične biološke, fizikalne i kemijske osobine. Poznat je kao biorazgradivi, netoksični, stabilni i biokompatibilni polimer. Ima linearnu strukturu koja je rezultat parcijalne deacetilacije hitina. Posjeduje reaktivne amino i hidroksilne skupine na linearnim lancima poliglukoamina (Slika 13). Kitozan je polikationski polimer koji pokazuje dobru adhezivnost i lako stvara film, što ga čini dobrim

materijalom za stvaranje polimernog matriksa. Treba istaknuti njegov veliki potencijal primjene u području elektrokemijskih biosenzora u svrhu selektivne i osjetljive analize biomolekula poput nukleinskih kiselina, lijekova itd. (Congur i sur., 2019).



Slika 13. Struktura hitina (a) i kitozana (b) (S. Islam, 2017)

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

Mesalazin, odnosno 5-aminosalicilna kiselina je protuupalni lijek koji se koristi kod upalnih bolesti crijeva, ponajprije kod Chronove bolesti. Djelovanje mu je lokalno u gastrointestinalnom traktu, gdje vrši protuupalni učinak na epitelne stanice inhibicijom ciklooksigenaze i posljedičnim smanjenjem sinteze upalnih medijatora poput leukotriena. Kod brojnih pacijenata oboljelih od Chronove bolesti je potrebna suplementacija folnom kiselinom jer su zbog prirode bolesti i terapije takvi pacijenti često u nedostatku folata. Zato se u ovom radu ispituju elektroanalitička svojstva mesalazina, u svrhu razvoja nove analitičke metode koja bi omogućila simultano određivanje mesalazina i folne kiseline u uzorku. Postojanje takve metode bi smanjilo potrošnju reagensa, uzorka i vremena, što bi, osim za pacijenta, značilo značajno poboljšanje i za analitičare koji određuju koncentracije tih analita.

U svrhu istovremenog određivanja mesalazina i folne kiseline odabrane su elektroanalitičke tehnike, odnosno voltometrija, koja je jeftina tehnika s iznimno brzim vremenom izvedbe. Za analizu je potrebna mala količina uzorka, koji može biti biološki uzorak ili farmaceutski oblik, te nije potrebna komplicirana obrada uzorka prije samog mjerenja. Mesalazin oksidacijom prelazi u kinonimin (Slika 2) gubitkom po jednog elektrona i protona s položaja 2 i 5, što se vizualizira kao strujni vrh na voltamogramu.

U svrhu dobivanja što većeg signala i smanjenja pozadinske struje, ispitivanja su vršena na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj različitim nanomaterijalima poput višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s različitim funkcionalnim skupinama. Uz to se ispitivao utjecaj polimernog matriksa i koncentracije nanomaterijala u polimernom matriksu na kvalitetu voltometrijskog signala. Također, ispitivao se utjecaj koncentracije uzorka i pH medija na izgled i veličinu strujnog vrha.

### **3. MATERIJALI I METODE**



### 3.1. KEMIKALIJE

U izradi ovog diplomskog rada korištene su sljedeće kemikalije:

1. Borna kiselina,  $H_3BO_3$  (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
2. Fosfatna kiselina,  $H_3PO_4$  (Lach-Ner, Neratovice, Češka)
3. Octena kiselina,  $CH_3COOH$  (Alkaloid Skopje, Skopje, Makedonija)
4. Natrijev hidroksid,  $NaOH$  (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
5. Nafion (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
6. Ultračista voda (dobivena pomoću Milli-Q sustava, Millipore, Bradford, SAD)
7. Višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane amino skupinama (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD)
8. Višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane karboksilnim skupinama (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD)
9. Višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane hidroksilnim skupinama (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD)
10. Višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane grafitom (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD)
11. 1 %-tna otopina kitozana u 1 %-tnoj octenoj kiselini
12. Mesalazin (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)

### 3.2. RADNI INSTRUMENTI

Za vaganje uzoraka za analizu i nanomaterijala korištena je analitička vaga Mettler Toledo AB-204-S. Podešavanje pH vrijednosti pufera i ispitivanih otopina vršilo se pomoću pH-metra s kombiniranom staklenom elektrodom tvrtke Mettler Toledo, koji je kalibriran standardnim otopinama pufera čiji je  $pH_1 = 4,00 \pm 0,01$  te  $pH_2 = 7,00 \pm 0,01$ . Za homogeniziranje suspenzija nanomaterijala i otopina uzoraka koristila se ultrazvučna kupelj Elmasonic S 30H Elma. Ista kupelj se koristila i za čišćenje površine elektrode nakon poliranja i prije nanošenja sloja nanomaterijala na površinu elektrode.

Ciklička i pravokutnovalna voltometrijska mjerenja vršena su pomoću  $\mu$ Autolab potencioštata/galvanostata proizvođača Eco Chemie, spojenim sa stolnim računalom te upravljanim programom GPES 4.9. Uređaj je povezan s elektrokemijskim člankom koji se sastoji od radne, referentne i protuelektrode. Kao radna elektroda korištena je elektroda od

staklastog ugljika čija je površina modificirana različitim nanomaterijalima poput ugljikovih nanocjevčica funkcionaliziranim hidroksilnim, karboksilnim i amino skupinama te grafitom. Za stvaranje homogene suspenzije navedenih nanomaterijala korištena je otopina Nafiona ili kitozana. Kao referentna elektroda je korištena srebro/srebrov klorid (Ag/AgCl) elektroda, dok je platinska elektroda korištena kao pomoćna elektroda.

### 3.3. PRIPREMA OTOPINA I SUSPENZIJA NANOMATERIJALA

#### 3.3.1. MATIČNA OTOPINA MESALAZINA

Za izradu matične otopine mesalazina ( $M_r=135.135$  g/mol) koncentracije  $1 \times 10^{-3}$  M prvo je na analitičkoj vagi u prašiću za vaganje izvagana masa mesalazina od 1,351 mg te je sav mesalazin kvantitativno prenesen u odmjernu tikvicu od 10,0 mL, uz ispiranje prašića za vaganje ultračistom vodom kako bi se osiguralo kvantitativno prenošenje i otapanje mesalazina. Odmjerna tikvica je do približno polovice volumena napunjena vodom te se stavlja na ultrazvučnu kupelj kako bi se osiguralo potpuno otapanje mesalazina. Nakon toga se tikvica puni ultračistom vodom do oznake te se promućka, zaklopi čepom, oblijepi parafilmom i sprema u hladnjak na  $4^\circ\text{C}$ , gdje je ujedno zaštićena od svjetlosti.

#### 3.3.2. BRITTON-ROBINSON PUFER

Britton-Robinson (BR) pufer smjesa je borne ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), octene ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) i fosfatne ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) kiseline koncentracije 0,5 M. U odmjernu tikvicu od 250,0 mL otpipetira se po 20,0 mL svake od navedene tri kiseline u koncentracijama od 0,5 M. Nakon toga se odmjerna tikvica napuni ultračistom vodom do oznake, čime se dobije pufer pH vrijednosti 1,9. Dodavanjem određene količine 0,2 M NaOH dobija se željeni pH pufera.

#### 3.3.3. RADNE OTOPINE MESALAZINA

Potrebno je pripremiti radne otopine mesalazina u koncentracijama  $1 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-5}$  i  $1 \times 10^{-5}$  M. Otopine se pripremaju tako da se u odmjernu tikvicu od 20,0 ml pipetira određena količina matične otopine te se tikvica do oznake nadopuni BR puferom željenog pH. Koncentracije radnih otopina te volumeni matične otopine potrebnih za izradu su prikazani u tablici 1.

Otopina	koncentracija otopine	volumen matične otopine
matična otopina	$1 \times 10^{-3}$ M	/
radna otopina 1	$1 \times 10^{-4}$ M	2 mL
radna otopina 2	$5 \times 10^{-5}$ M	1 mL
radna otopina 3	$1 \times 10^{-5}$ M	200 $\mu$ L

Tablica 1. Izrada radnih otopina mesalazina

### 3.3.4. SUSPENZIJE NANOMATERIJALA

Na analitičkoj vagi izvažuje se zasebno po 1 mg višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s vezanim karboksilnim skupinama, 1 mg višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s vezanim hidroksilnim skupinama, 1 mg višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s vezanim amino skupinama te 1 mg višeslojnih ugljikovih nanocjevčica modificiranih grafitom. Svaki od navedenih nanomaterijala kvantitativno je prenesen u zasebnu tikvicu volumena 5,0 mL te je u svaku pipetiran 1,0 mL 0,3%-tne otopine Nafiona u etanolu. Ta je otopina dobivena razrjeđivanjem 600  $\mu$ l 5 %-tne otopine Nafiona do ukupnog volumena od 10,0 mL. Koncentracije tako priređenih nanomaterijala iznose 1 mg/mL.

Za daljnja mjerenja je postupak vaganja nanomaterijala ostao isti, ali se kao suspenzijsko sredstvo koristila otopina 0,5%-tnog kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini. 1%-tna octena kiselina se priprema tako, da se 100  $\mu$ l 99,8 %-tne octene kiseline razrijedi ultračistom vodom do volumena od 10,0 mL. 0,5%-tna otopina kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini dobiva se miješanjem jednakih volumena 1%-tne otopine kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini i 1%-tne octene kiseline. U zasebne tikvice od 5,0 mL stavljen je po 1 mg od navedenih nanomaterijala te je dodan 1 ml pripremljene otopine tako da je koncentracija suspenzije iznosila 1mg/ml.

Dodatno su pripremljene suspenzije višeslojnih ugljikovih nanocjevčica modificiranih grafitom i višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s vezanim aminoskupinama u 0,5%-tnom kitozanu u koncentracijama od 0,5 mg/mL i 2 mg/mL. Navedene suspenzije priređene su tako da se 1,0 mg određenog nanomaterijala suspendiralo u 2,0 mL otopine kitozana, dajući suspenziju koncentracije 0,5 mg/mL, odnosno 2 mg nanomaterijala u 1 mL otopine, dajući suspenziju koncentracije 2mg/mL.

Sve priređene suspenzije nanomaterijala zatvorene su čepom, označene i oblijepljene parafilmom te pohranjene u hladnjak na temperaturu od 4 °C gdje su također zaštićene od svjetlosti.

### 3.4. PRIPREMA ELEKTRODA

Elektroda od staklastog ugljika se prije svakog mjerenja polirala na krpici s prahom aluminijevog oksida ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), stavila u ultrazvučnu kupelj kako ne bi zaostalo čestica na njenoj površini te isprala deioniziranom vodom. Isti postupak se primjenjivao i kod modificirane elektrode, tako što je nakon sušenja nanoseno 5  $\mu\text{l}$  suspenzije određenog nanomaterijala koja je prethodno homogenizirana u ultrazvučnoj kupelji. Elektroda je spremna za korištenje tek nakon što je otapalo iz nanosene suspenzije u potpunosti isparilo, odnosno kada je nanoseni sloj potpuno suh. Nakon određenog broja mjerenja, sloj nanomaterijala se skidao ponovnim poliranjem na krpici s  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , elektroda se stavila u ultrazvučnu kupelj te isprala destiliranom vodom. Navedeni postupak je primijenjen prilikom modificiranja elektrode sa svakim od gore navedenih nanomaterijala.

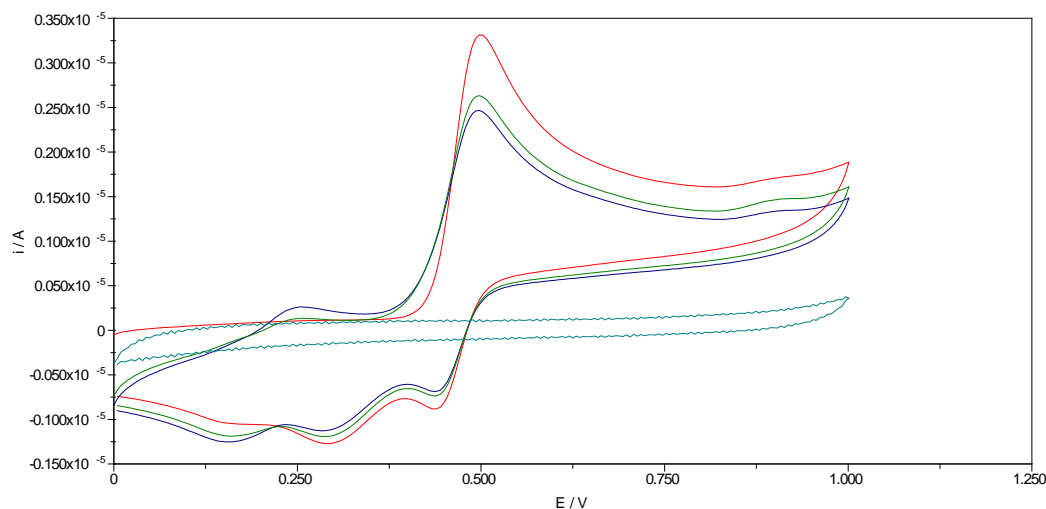
### 3.5. UVJETI MJERENJA

Ciklički voltamogrami snimljeni su na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika (*eng. glassy carbon electrode; GCE*), elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama s vezanim amino skupinama, višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama s vezanim hidroksilnim skupinama, višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama s vezanim karboksilnim skupinama te na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama koje su modificirane grafitom. Nanomaterijali su suspendirani u 0,3%-tnoj otopini Nafiona u etanolu i 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini. pH vrijednosti kretale su se u rasponu od 2 do 8, koristeći Britton-Robinson pufer i 0,2 M otopinu NaOH. Brzina promjene potencijala iznosila je 100 mV/s u rasponu potencijala od 0 do 1,0 V.

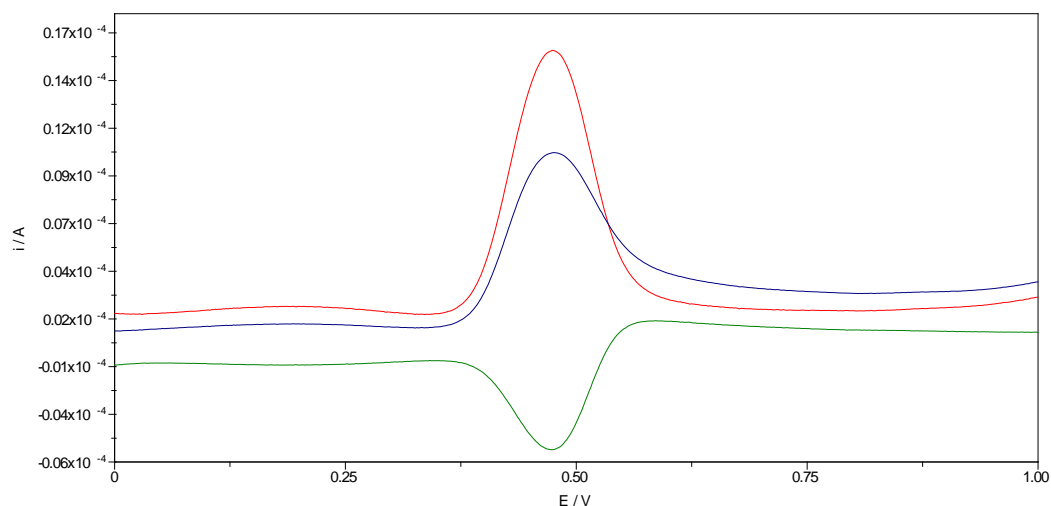
Pravokutnovalni voltamogrami snimljeni su na nemodificiranoj GCE te na GCE modificiranoj gore navedenim nanomaterijalima u području potencijala od 0 do 1,0 V, frekvencije 70 Hz, amplitude pulsa 50 mV te promjene porasta potencijala od 2 mV. pH vrijednost ispitivane otopine se i u ovom slučaju kretala od 2 do 8 .

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

Cikličkom (CV) i pravokutnovalnom (SWV) voltametrijom snimljena je otopina mesalazina u osnovnom elektrolitu Britton-Robinson puferu pH vrijednosti 2. Mjerenje se vršilo nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika. Prvo se snimio voltamogram osnovnog elektrolita bez mesalazina, nakon čega su slijedila ponovljena mjerenja otopine mesalazina u osnovnom elektrolitu. Dobiveni ciklički i pravokutnovalni voltamogrami prikazani su na slikama 14 i 15.



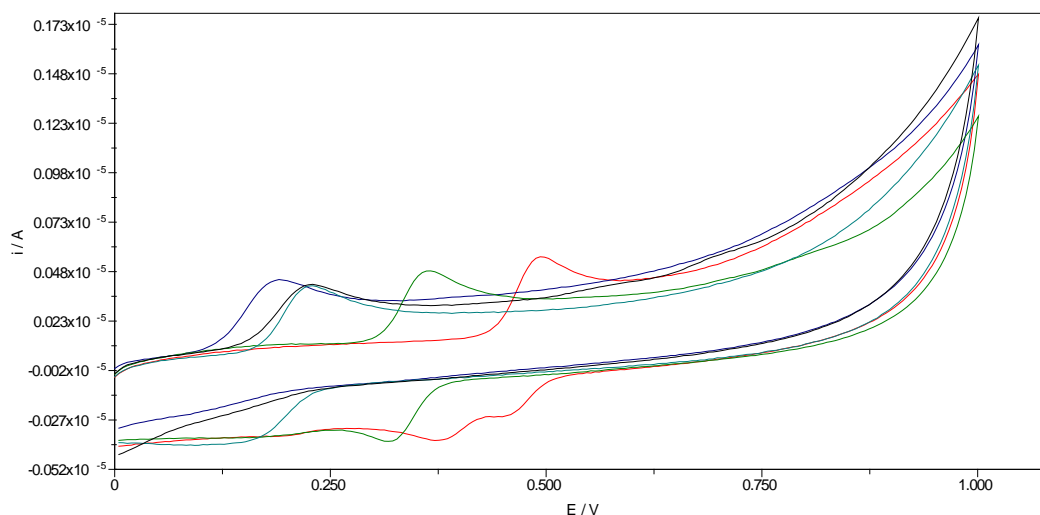
Slika 14. Ciklički voltamogrami otopine mesalazina koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 2 snimljeni nemodificiranom GCE pri promjeni brzine potencijala 100 mV/s; osnovni elektrolit tirkizno, prvo mjerenje crveno, drugo mjerenje zeleno, treće mjerenje plavo



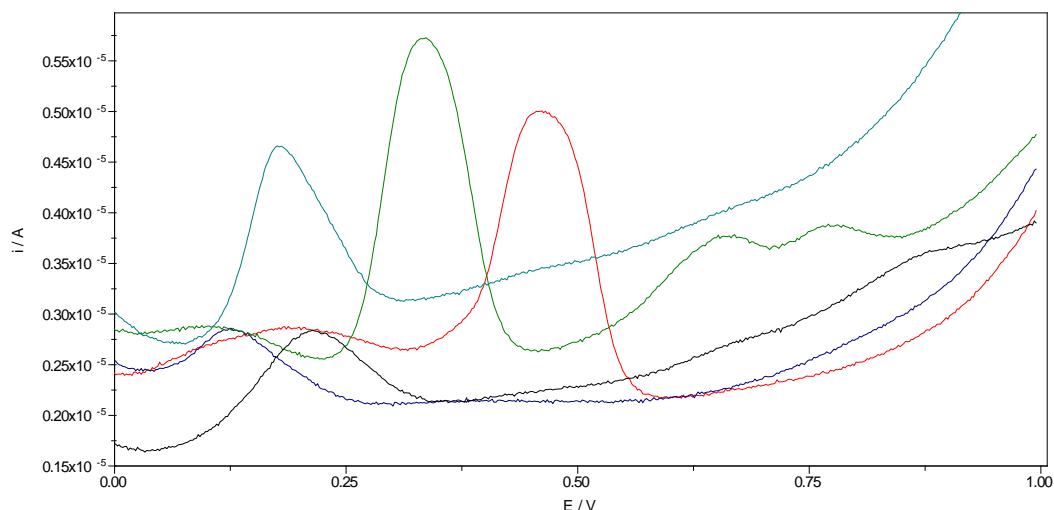
Slika 15. Pravokutnovalni voltamogram mesalazina koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 2, na GCE frekvencije 70 Hz, amplitude pulsa 50 mV, promjene porasta potencijala 2mV; ukupna struja crveno, polazni puls plavo, povratni puls zeleno

Iz prvog voltamograma je vidljiv jedan dobro definirani oksidacijski pik na vrijednosti potencijala od približno 0,5 V. Nastaje kao posljedica oksidacije mesalazina na fenolnom kisiku i amino skupini, čime se uz dva elektrona gube i dva protona te nastaje kinonimin (Slika 2). U povratnom mjerjenju cikličke voltametrije uočavamo nekoliko manje definiranih redukcijskih pikova, što govori o reverzibilnosti prijenosa elektrona uz popratnu kemijsku reakciju. Izgled pravokutnovalnog voltamograma potvrđuje reverzibilnost reakcije uz jedan dobro definirani pik pri približno istoj vrijednosti potencijala, koji je sačinjen od struje polaznog i povratnog pulsa.

Budući da je pH vrijednost osnovnog elektrolita jedan od najznačajnijih faktora koji utječu na izgled voltamograma, sljedećim mjerjenjima je određena pH vrijednost pufera koja će dati najpovoljnije rezultate mjerjenja. Stoga su cikličkom i pravokutnovalnom voltametrijom snimljene otopine mesalazina u BR puferu u pH rasponu od 2 do 8 upotrebom nemodificirane elektrode od staklastog ugljika. Mjerenje se najprije vršilo u puferu željenog pH bez prisutnosti analita, kako bi se ustalilo očitavanje jakosti struje, nakon čega se mjerila otopina analita. Dobiveni ciklički i pravokutnovalni voltamogrami mesalaina prikazani su na slikama 16 i 17.



Slika 16. Ciklički voltamogrami otopine mesalazina koncentracije  $1 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 2 (crveno), pH 4 (zeleno), pH 6 (tirkizno), pH 7 (crno) i pH 8 (plavo) na GCE pri brzini promjene potencijala 100 mV/s

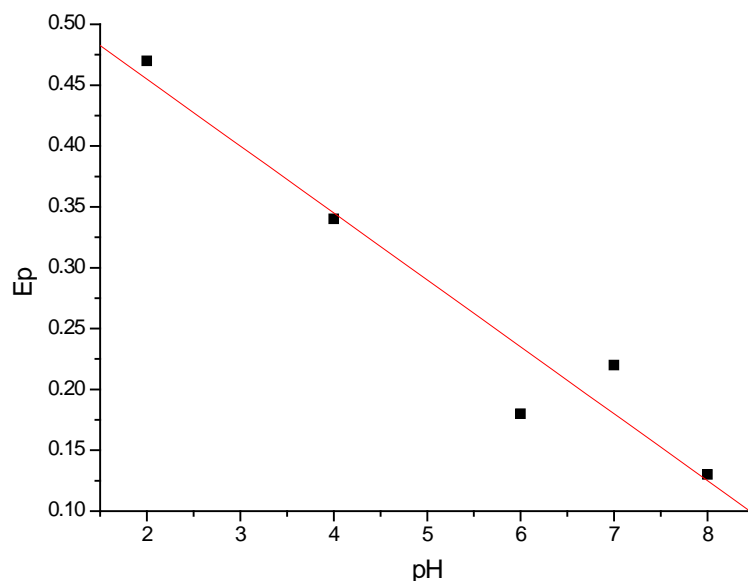


Slika 17. Pravokutnovalni voltamogram otropole mesalazina koncentracije  $1 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 2 (crveno), pH 4 (zeleno), pH 6 (tirkizno), pH 7 (crno), pH 8 (plavo) na GCE frekvencije 70 Hz, amplitude pulsa 50 mV i promjene porasta potencijala 2mV

Iz cikličkog voltamograma može se uočiti, kako se povećanjem pH vrijednosti otropole oksidacijski pikovi pomiču prema nižim vrijednostima potencijala. Redukcijski se pikovi također pomiču prema nižim potencijalima, a pri pH vrijednostima 7 i 8 više nisu uočljivi, iz čega slijedi da u tom pH području nema povratne redukcije analita, odnosno da je oksidacija postala ireverzibilna. Sličan trend se uočava i na pravokutnovalnim voltamogramima. Povećanjem pH vrijednosti se pikovi pomiču ka nižim vrijednostima potencijala, a pri pH vrijednostima 7 i 8 su pikovi znatno manji, upravo zbog izostanka redukcije analita i signala u povratnom pulsu.

Kako bi se dobio jasniji uvid u promjenu položaja pikova promjenom pH vrijednosti, napravljen je grafički prikaz ovisnosti potencijala oksidacije mesalazina o pH vrijednosti osnovnog elektrolita (Slika 18).

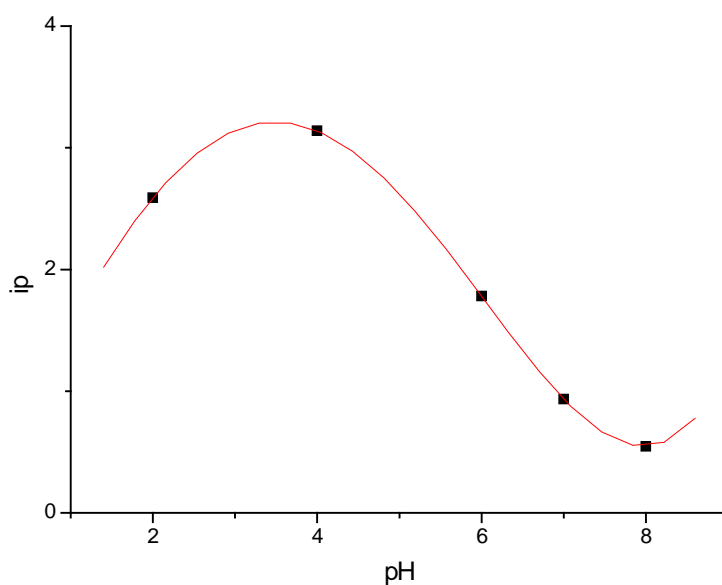




Slika 18. Grafički prikaz ovisnosti potencijala oksidacije mesalazina u pravokutnovalnoj voltametriji o pH vrijednosti osnovnog elektrolita

Iz navedenog grafičkog prikaza je vidljivo da vrijednost potencijala oksidacije linearno ovisi o pH, uz nagib pravca od  $-55 \text{ mV/pH}$ . To se podudara s teorijskom vrijednosti od  $-59 \text{ mV/pH}$  za redoks sustave kod kojih je jednak broj protona i elektrona uključen u reakciju, iz čega slijedi zaključak da je difuzija analita ograničavajući korak za oksidaciju mesalazina.

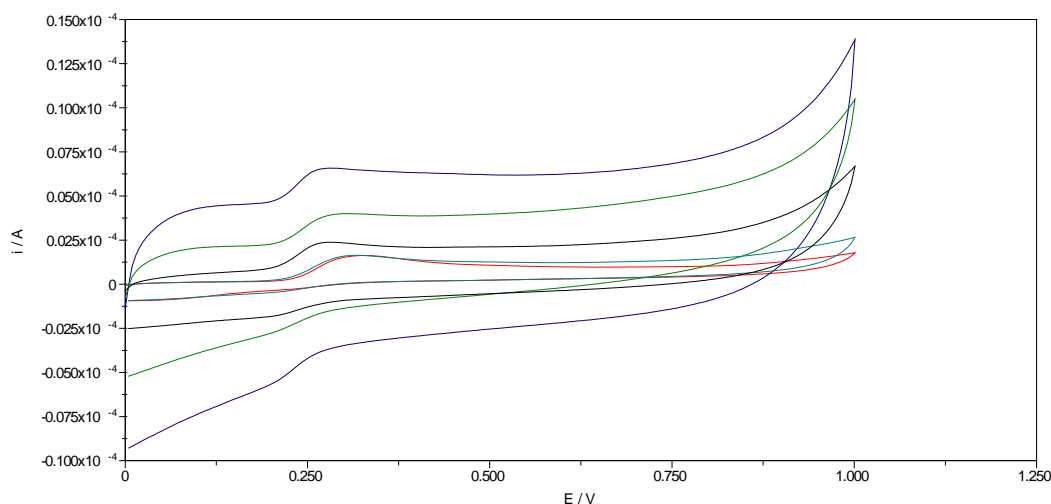
Na isti način prikazana je ovisnost vršne jakosti struje oksidacije mesalazina u pravokutnovalnoj voltametriji o pH vrijednosti osnovnog analita (Slika 19).



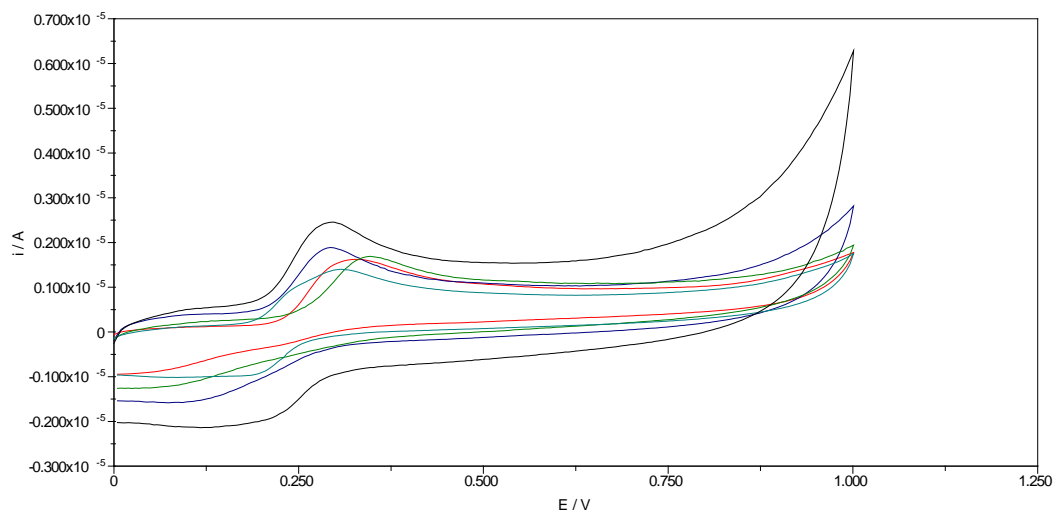
Slika 19. Ovisnost vršne jakosti struje oksidacije mesalazina u pravokutnovalnoj voltametriji o pH vrijednosti osnovnog elektrolita

Vršna vrijednost jakosti struje, odnosno visina voltametrijskog pika, je najveća kod pH vrijednosti 2 i 4 te se povećanjem pH vrijednosti ona smanjuje. U daljnjim mjerenjima za osnovni elektrolit je odabrana pH vrijednost 6. Iako ta vrijednost nije optimalna za veličinu voltametrijskog pika mesalazina, odabrana je zbog mogućnosti daljnjeg razvoja metode u smjeru istovremenog odrađivanja mesalazina i folne kiseline, budući da je optimalna pH vrijednost za voltametrijska istraživanja folne kiseline upravo pH 6.

Sljedeća faza istraživanja bila je ispitati utjecaj različitih nanomaterijala na rezultate mjerenja. Primjenom sloja nanomaterijala na površini elektrode potrebno je osigurati uvjete koji će dovesti do što većeg odaziva elektrode uz što manju pozadinsku struju. U tu svrhu su snimljeni ciklički i pravokutnovalni voltamogrami otopine mesalazina koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 6 u rasponu potencijala od 0 do 1,0 V na GCE modificiranoj višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama s grafitom (MWCNT/grafit), višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama s vezanim amino skupinama (MWCNT/NH<sub>2</sub>), višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama s vezanim hidroksilnim skupinama (MWCNT/OH) i višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama s vezanim karboksilnim skupinama (MWCNT/COOH) suspendiranim u 0,3 %-tnoj otopini Nafiona u etanolu i 0,5 %-tnoj otopini kitozana u 1 %-tnoj octenoj kiselini. Koncentracija priređenih suspenzija iznosila je 1 mg/mL. Dobiveni voltamogrami prikazani su na slikama 20 i 21.



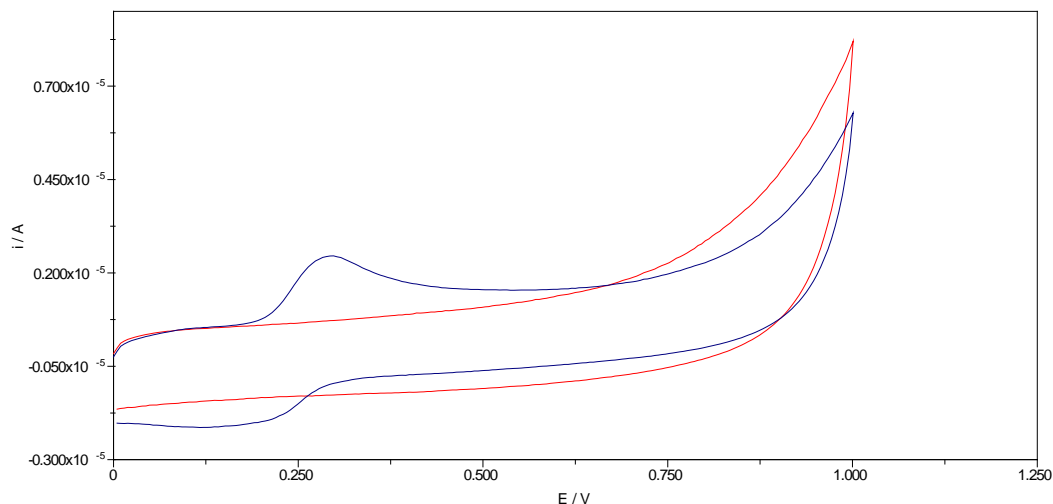
Slika 20. Ciklički voltamogrami otopine mesalazina koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 6 na nemedificiranoj GCE (crveno) te na GCE modificiranoj MWCNT/grafit (tirkizno), MWCNT/NH<sub>2</sub> (crno), MWCNT/COOH (zeleno) i MWCNT/OH (plavo) ( $c=1$ mg/mL) u 0,3%-tnoj etanolnoj otopini Nafiona pri brzini promjene potencijala od 100 mV/s



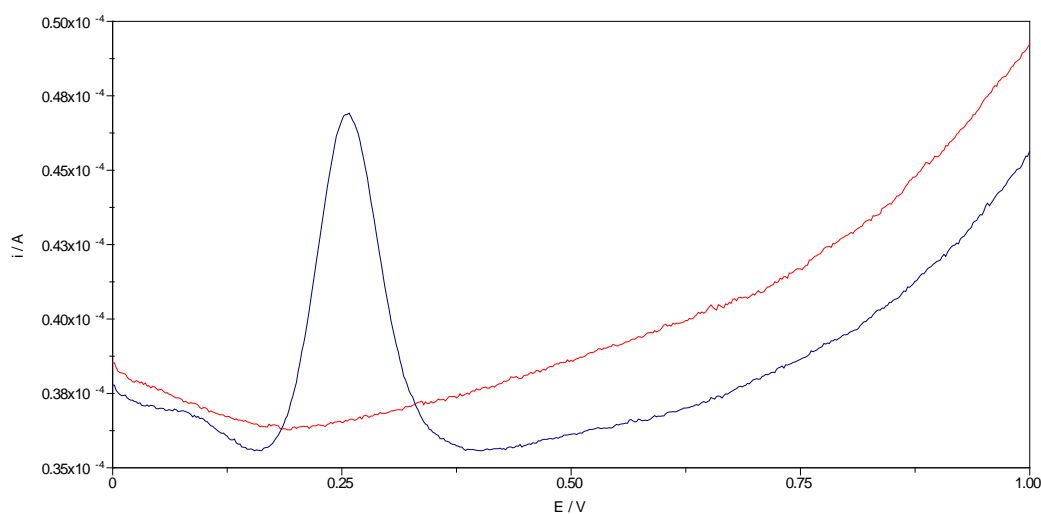
Slika 21. Ciklički voltamogrami otopine mesalazina koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 6 na nemodificiranoj GCE (crveno) te na GCE modificiranoj MWCNT/grafit (tirkizno), MWCNT/NH<sub>2</sub> (crno), MWCNT/COOH (zeleno) i MWCNT/OH (plavo) ( $c=1\text{mg/mL}$ ) u 0,5 %-tnoj otopini kitozana u 1 %-tnoj octenoj kiselini pri brzini promjene potencijala 100 mV/s

Iz priloženih voltamograma je vidljivo da su oksidacijski pikovi znatno veći kada se elektroda modificira sa slojem nanomaterijala. Suspenzija nanomaterijala u 0,5%-tnom kitozanu u 1%-tnoj octenoj kiselini je dala puno veće i bolje definirane pikove nego suspenzija nanomaterijala u 0,3%-tnom Nafionu. Takav ishod je bio očekivan, budući da kitozan sadrži pozitivno nabijene amino skupine, dok je mesalazin pri pH 6 negativno nabijen te stoga dolazi do privlačenja suprotnih naboja, što pospješuje oksidaciju mesalazina na površini elektrode.

Budući da su najveći pikovi dobiveni modificiranjem površine elektrode s MWCNT/NH<sub>2</sub>, radi zornijeg prikazivanja utjecaja navedenog materijala na odaziv elektrode, zasebno su na slikama 22 i 23 izdvojeni ciklički i pravokutnovalni voltamogrami mjerenja otopine mesalazina GCE modificiranom s MWCNT/NH<sub>2</sub> u odnosu na otopinu samog osnovnog elektrolita.



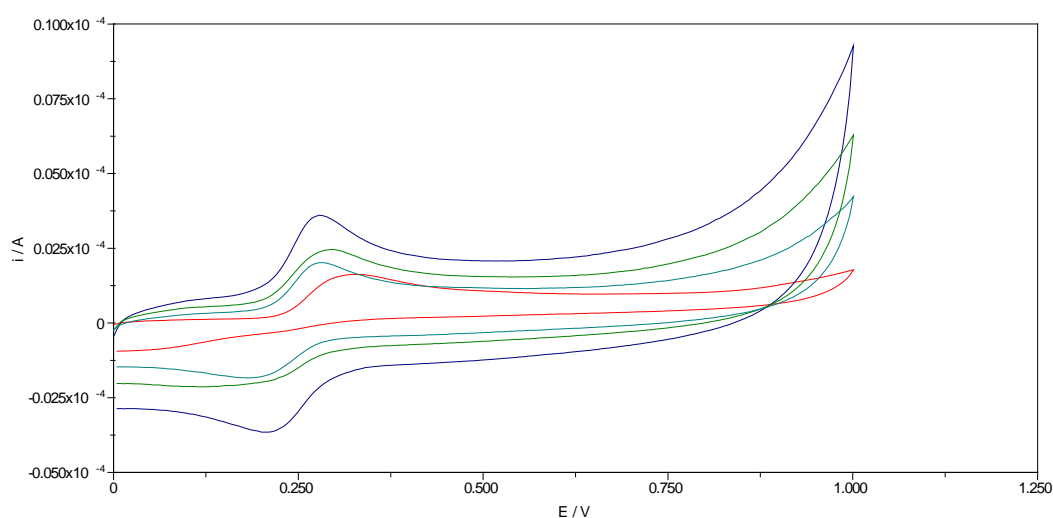
Slika 22. Ciklički voltamogram BR pufera pH 6 (crveno) i otopine mesalazina koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 6 (plavo) na GCE čija je površina modificirana MWCNT/NH<sub>2</sub> ( $c=1,0$ mg/mL) u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini, pri brzini promjene potencijala 100 mV/s



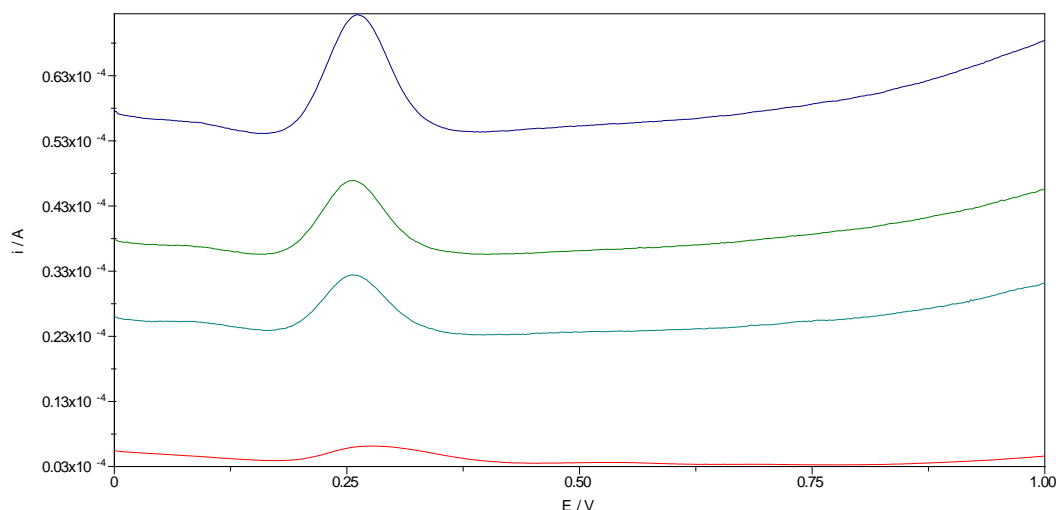
Slika 23. Pravokutnovalni voltamogram BR pufera pH 6 (crveno) i otopine mesalazina koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 6 (plavo) na GCE čija je površina modificirana MWCNT/NH<sub>2</sub> ( $c=1,0$  mg/mL) u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini, pri frekvenciji od 70 Hz, amplitudi pulsa 50 mV, promjeni porasta potencijala 2mV

Priloženi voltamogrami pokazuju kako je pravokutnovalna voltometrija puno osjetljivija metoda analize koja daje veći analitički signal, osobito kada se radi o reverzibilnim reakcijama poput oksidacije mesalazina te bi u daljnjim istraživanjima u smjeru istovremenog određivanja folne kiseline bila najpogodnija metoda analize.

Do sada je u razvoju metode najbolje ishode dala GCE modificirana višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama s vezanim aminoskupinama (MWCNT/NH<sub>2</sub>) suspendiranim u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini. Koncentracija navedenog nanomaterijala u suspenziji iznosila je 1mg/mL. Sljedeći korak u razvoju metode bio je ispitati utjecaj koncentracije nanomaterijala u suspenziji na rezultate mjerenja. U tu svrhu su priređene suspenzije u kojima koncentracije nanomaterijala iznose 0,5 mg/mL i 2,0 mg/mL (postupak opisan u odjeljku 3.3.4.). Voltamogrami snimljeni nanošenjem navedenih suspenzija na GCE prikazani su na slikama 24 i 25.



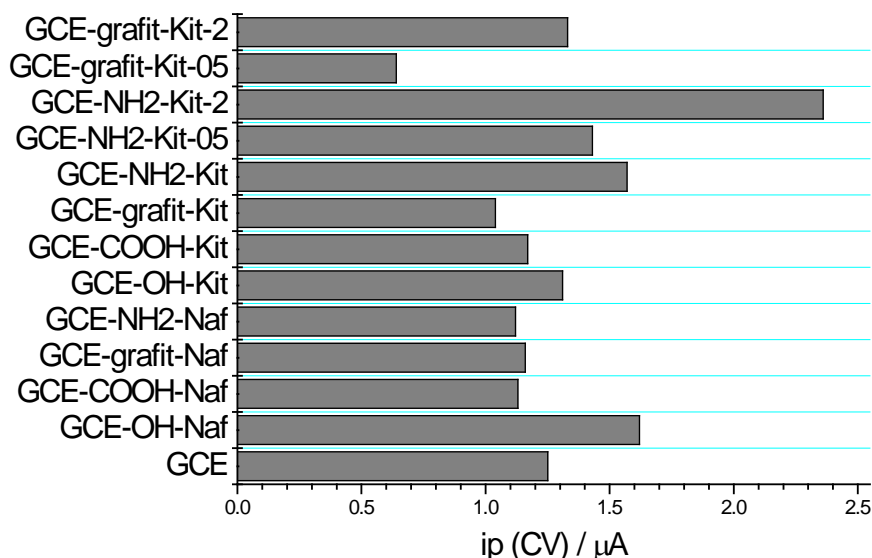
Slika 24. Ciklički voltamogrami otopine mesalazina koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 6 snimljeni koristeći nmodificiranu GCE (crveno) te GCE modificiranu suspenzijom MWCNT/NH<sub>2</sub> u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini koncentracije 0,5 mg/mL (tirkizno), 1,0 mg/mL (zeleno) i 2,0 (plavo) pri brzini promjene potencijala 100 mV/s



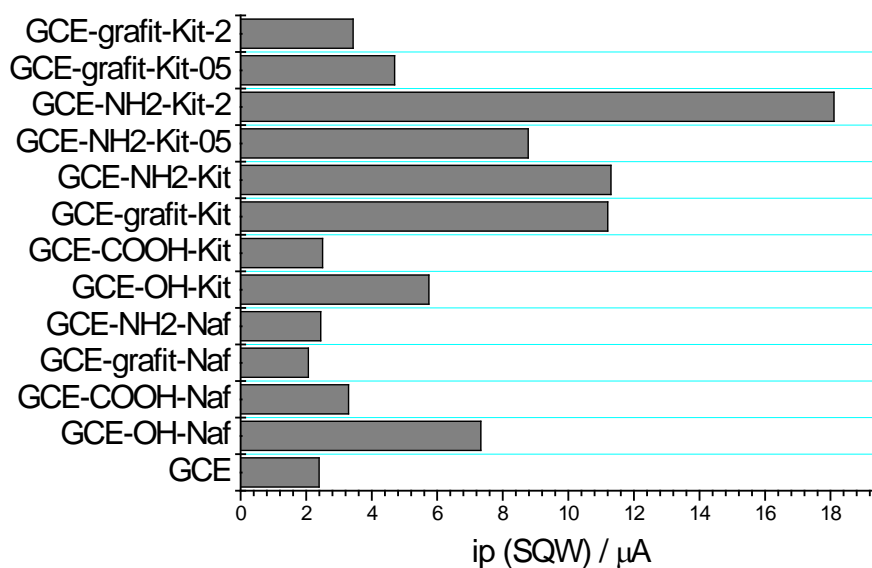
Slika 25. Pravokutnovalni voltamogrami otopine mesalazina koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 6 snimljeni koristeći nemodificiranu GCE (crveno) te GCE modificiranu suspenzijom MWCNT/NH<sub>2</sub> u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini koncentracije 0,5 mg/mL (tirkizno), 1,0 mg/mL (zeleno) i 2,0 (plavo) pri frekvenciji od 70 Hz, amplitudi pulsa 50 mV, promjeni porasta potencijala 2mV

Iz priloženih voltamograma je vidljivo da se povećanjem koncentracije nanomaterijala u suspenziji povećava i vršna jakost struje. Uz to su pikovi dobiveni korištenjem GCE modificirane nanomaterijalima uži i definiraniji, te blago pomaknuti prema nižim vrijednostima potencijala. Zaključujemo kako su korištenjem višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s vezanim amino skupinama suspendiranim u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini u koncentraciji 2 mg/mL dobiveni najpovoljniji rezultati, kako u cikličkoj, tako i u pravokutnovalnoj voltametriji.

Kako bi se zornije prikazali svi prikupljeni rezultati mjerenja, izrađeni su grafički prikazi koji uspoređuju izmjerene vršne jakosti struje na modificiranoj elektrodi u cikličkoj (Slika 26) i pravokutnovalnoj voltametriji (Slika 27).



Slika 26. Vršne jakosti struje mesalazina koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 6 izmjerene cikličkom voltametrijom na modificiranoj GCE pri brzini promjene potencijala 100 mV/s



Slika 27. Vršne jakosti struje mesalazina koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 6 izmjerene pravokutnovalnom voltametrijom na modificiranoj GCE pri frekvenciji 70 Hz, amplitudi pulsa 50 mV, promjeni porasta potencijala 2mV

\*GCE-grafit-Kit-2: GCE modificirana MWCNT/grafit ( $c=2$  mg/mL) u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini; GCE-grafit-Kit-0,5: GCE modificirana MWCNT/grafit ( $c=0,5$  mg/mL) u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini; GCE-NH2-Kit-2: GCE modificirana MWCNT/ $\text{NH}_2$  ( $c=2$ mg/mL) u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini; GCE-NH2-Kit-0,5: GCE modificirana MWCNT/ $\text{NH}_2$  ( $c=0,5$ mg/mL) u 0,5%-

tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini; GCE-NH<sub>2</sub>-Kit: GCE modificirana MWCNT/NH<sub>2</sub> (c=1mg/mL) u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini; GCE-grafit-Kit: GCE modificirana MWCNT/grafit (c=1 mg/mL) u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini; GCE-COOH-Kit: GCE modificirana MWCNT/COOH (c=1 mg/mL) u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini; GCE-OH-Kit: GCE modificirana MWCNT/OH (c=1 mg/mL) u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini; GCE-NH<sub>2</sub>-Naf: GCE modificirana MWCNT/NH<sub>2</sub> (c=1 mg/mL) u 0,3%-tnoj etanolnoj otopini Nafiona; GCE-grafit-Naf: GCE modificirana MWCNT/grafit (c=1 mg/mL) u 0,3%-tnoj etanolnoj otopini Nafiona; GCE-COOH-Naf : GCE modificirana MWCNT/COOH (c=1 mg/mL) u 0,3%-tnoj etanolnoj otopini Nafiona; GCE-OH-Naf: GCE modificirana MWCNT/OH (c=1mg/mL) u 0,3%-tnoj etanolnoj otopini Nafiona; GCE: nemodificirana elektroda od staklastog ugljika.



## **5.ZAKLJUČCI**

Preliminarna voltametrijska mjerenja otopine mesalazina u BR puferu pH 2 na GCE pokazala su, kako je oksidacija mesalazina reverzibilan proces, koji daje jedan dobro definirani pik koristeći pravokutnovalnu voltametriju, odnosno jasno definirane oksidacijske i redukcijske pikove koristeći cikličku voltametriju. Optimalni uvjeti za veličinu i izgled pika mesalazina u pravokutnovalnoj voltametriji su frekvencija od 70 Hz, amplituda pulsa od 50 mV te promjena porasta potencijala od 2 mV.

Povećavanjem pH vrijednosti otopine primijećeno je pomicanje voltametrijskih pikova mesalazina prema nižim vrijednostima potencijala uz koeficijent od 55 mV po jedinici pH. Stoga se zaključuje kako je oksidacija mesalazina proces gubitka jednakog broja protona i elektrona te je brzina procesa kontrolirana difuzijom. Zbog izgleda i položaja pika na voltamogramu, odabrana je pH vrijednost 6 za daljnja mjerenja.

Modificiranjem GCE različito funkcionaliziranim ugljikovim nanocjevčicama znatno se poboljšava izgled i veličina snimljenih voltametrijskih pikova mesalazina. Pri tome je važno s kojim funkcionalnim skupinama su ugljikove nanocjevčice modificirane te polimerni matriks u kojem su ugljikove nanocjevčice suspendirane. Najbolji rezultati su dobiveni korištenjem višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s vezanim amino skupinama (MWCNT/NH<sub>2</sub>) koje su suspendirane u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini.

Još jedan značajan čimbenik koji utječe na rezultate voltametrijskih mjerenja je i koncentracija nanomaterijala u suspenziji koja se nanosi na površinu elektrode. Stoga su ispitane različite koncentracije dviju nanomaterijala koji su pokazali najbolje rezultate u prethodnim mjerenjima, a to su MWCNT/NH<sub>2</sub> i MWCNT/grafit. Zaključeno je kako suspenzija MWCNT/NH<sub>2</sub> u koncentraciji od 2,0 mg/mL u 0,5%-tnoj otopini kitozana u 1%-tnoj octenoj kiselini daje najveće pikove te se upravo taj nanomaterijal preporučuje za daljnja istraživanja u smjeru razvoja nove elektroanalitičke metode za istovremeno određivanje mesalazina i folne kiseline.

## **6. LITERATURA**

091640Orig1s000lbl.pdf , URL:

[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2017/091640Orig1s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/091640Orig1s000lbl.pdf) , pristupljeno 16.5.2019.

Aghajari R, Azadbakht A. Amplified detection of streptomycin using aptamer-conjugated palladium nanoparticles decorated on chitosan-carbon nanotube. *Anal. Biochem.*,2018, 547str. 57-72

All About Nafion – Perma Pure, URL: <https://www.permapure.com/resources/all-about-nafion-and-faq/> , pristupljeno: 20.5.2019.

Asacol HD, Pentasa (mesalamine) dosing, indications, interactions, adverse effects, and more URL: <https://reference.medscape.com/drug/asacol-hd-pentasa-mesalamine-342074> , pristupljeno 16.5.2019.

Bilal S. Cyclic Voltammetry. U: *Encyclopedia of Applied Electrochemistry*. Kreysa G., Ota K., Savinell R.F. Springer, New York, NY, 2014, 215-246.

Cao G. Nanostructures and Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications. London, Imperial College Press, 2004. 24-36

Cat@1075\_GB, URL:

[https://www.pharmacopoeia.com/Catalogue/Preview?uri=%2Fcontent%2Ffile%2Fproduct%2Fhealthandsafety%2FCat\\_1075\\_GB.pdf](https://www.pharmacopoeia.com/Catalogue/Preview?uri=%2Fcontent%2Ffile%2Fproduct%2Fhealthandsafety%2FCat_1075_GB.pdf) , pristupljeno 17.5. 2019.

Chung D. A review of exfoliated graphite. *J. Mater. Sci.* 2016, 51, 554–568.

Congur G, Eksin E, Erdem A, Chitosan modified graphite electrodes developed for electrochemical monitoring of interaction between daunorubicin and DNA. *Sensing and Bio-Sensing Research*. Volume 22, February 2019, 100255

cyclic\_voltammetry.pdf , URL: [http://www2.mpip-mainz.mpg.de/~andrienk/journal\\_club/cyclic\\_voltammetry.pdf](http://www2.mpip-mainz.mpg.de/~andrienk/journal_club/cyclic_voltammetry.pdf) , pristupljeno 19.5.2019.

de Oliveira IRWZ, Vieira IC. Immobilization procedures for the development of a biosensor for determination of hydroquinone using chitosan and glio. *Enzym. Microb. Technol.*, 2006, 38, str. 449-463

Ensafi AA, Karimi-Maleh H, Mallakpour S. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Acetaminophen, and Tryptophan by Square Wave Voltammetry Using N

-(3,4- Dihydroxy

Paste Electrode. *Electroanalysis* 2012, 24, 666-678

Islam S, Bhuiyan MAR, Islam MN. Chitin and chitosan: structure, properties and applications in biomedical engineering. *J Polym Environ* 25, 2017, 854-868

Kounaves SP. Voltammetric Techniques. U *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Bertrand MJ, Settle FA Prentice Hall: Upper Saddle River. 1997. str. 711-729.

Kukovecz Á, Kozma G, Kónya Z. Multi-Walled Carbon Nanotubes. U: *Springer Handbook of Nanomaterials*. Vajtai R. Springer Handbooks. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013, str.147-169.

Kurbanoglu S, Ozkan SA. Electrochemical carbon based nanosensors: A promising tool in pharmaceutical and biomedical analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, 147, 439-457

MazovIN, Kuznetsov VL, Krasnikov DV i sur. Structure and Properties of Multiwall Carbon Nanotubes/Polystyrene Composites Prepared via Coagulation Precipitation Technique. *Journal of Nanotechnology*, vol. 2011, str. 216-224

Mesalazine - Drugs.com, URL: <https://www.drugs.com/international/mesalazine.html> , pristupljeno 16.5.2019.

Microsoft Word - Application Note S-7.doc, URL: [https://www.ameteksi.com/-/media/ameteksi/download\\_links/documentations/library/princetonappliedresearch/application\\_note\\_s-7.pdf?la=en](https://www.ameteksi.com/-/media/ameteksi/download_links/documentations/library/princetonappliedresearch/application_note_s-7.pdf?la=en) , pristupljeno: 18.5.2019.

Mirceski V, Gulaboski R, Lovric M, Bogeski I, Kappl R, Hoth M. Square -Wave Voltammetry: A Review on the Recent Progress. *Electroanalysis*, 2013, 29, 2411-2422

Olah GA, Prakash GKS, Arvanaghi M. Nafion-Coated Electrodes and Electrogenerated Chemiluminescence of Surface-Attached Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> *J. Am. Chem. SOC.* 1980,102, 6642-6644

- Palecek E, Dorcák V. Label-free electrochemical analysis of biomacromolecules. *App. Mater. Today*, 2017, 9, 434-450
- Pandey P, Datta M, Malhotra BD, Prospects of nanomaterials in biosensors. *Anal. Lett.* 2008, 41 (2) , 159–209.
- Pauliukaite R, Ghica ME, Fatibello-Filho O, Brett CMA. Electrochemical impedance studies of chitosan-modified electrodes for application in electrochemical sensors and biosensors. *Electrochim. Acta.* 2010, 55 , 6239-6253
- Pentasa 1 g čepići - Baza lijekova | Lijekovi .: HALMED, URL: <http://new.halmed.hr> , pristupljeno 16.5.2019.
- Pérez-López B, Merkoć A. Nanomaterials based biosensors for food analysis applications. *Trends Food Sci. Technol.* 2011, 22 (11) , 625–639.
- Sanchez F, Sobolev K. Nanotechnology in concrete– a review, *Constr. Build. Mater.* 2010, 24 (11) , 2060–2071.
- Sengupta R, Bhattacharya M, Bandyopadhyay S, Bhowmick AK. A review on the mechanical and electrical properties of graphite and modified graphite reinforced polymer composites. *Prog. Polym. Sci.* 2011, 36, 638–670.
- Shen J, Hu Y, Li C, Qin C, Ye M. Synthesis of amphiphilic graphene nanoplatelets. *Small* 2009, 5, 82–85
- Švorc, L., Sochr, J., Tomčík, P., Rievaj, M., & Bustin, D. Simultaneous determination of paracetamol and penicillin V by square-wave voltammetry at a bare boron-doped diamond electrode. *Electrochimica Acta*, 2012, 68, 227-234.
- Tabasi A, Noorbakhsh A, Sharifi E. Reduced graphene oxide-chitosan-aptamer interface as a new platform for ultrasensitive detection of human epidermal growth factor receptor 2. *Biosens. Bioelectron.* 2017, 95 str. 117-131
- Tian X, Cheng C, Yuan H, Du J, Xiao D, Xie S, Choi MMF. Simultaneous determination of L-ascorbic acid, dopamine and uric acid with gold nanoparticles- $\beta$ -cyclodextrin-graphene-modified electrode by square wave voltammetry. *Talanta* 2012, 93, 79-91.

Tsai YC, Chen JM, Li SC, Marken F. Electroanalytical thin film electrodes based on a Nafion™ – multi-walled carbon nanotube composite , *Electrochemistry Communications*. 2004, svezak 6, izdanje 9, 917-922

Wang J, Lu J, Hocevar S, Farias P, Ogorevc B. Bismuth-coated carbon electrodes for anodic stripping voltammetry. *Anal. Chem.* 2000, 72, 3218-3231.

Wick P. i sur. Classification framework for graphene-based materials. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2014, 53, 7714–7718.

Wu Y, Yang J, Zheng Z, Li Z, Lu F, Chen Y, Gao W. Three-dimensional Tri-SNSs-layered electrodeposited reduced graphene oxide for ECL biosensing of DNA. *Talanta*, 2018, 188 str. 58-71

Yang SY, Lin WN, Huang YL, Tien HW, Wang JY, Ma CCM, Li SM, Wang YS. Synergetic effects of graphene platelets and carbon nanotubes on the mechanical and thermal properties of epoxy composites. *Carbon* 2011, 49, 793–803.

Yi H, Wu LQ, Bentley WE, Ghodss R, Rubloff GW, Culver JN, Payne GF. Biofabrication with chitosan. *Biomacromolecules*. 2005, 6, str. 2881-2895

Zhang M, Li Y, Su Z, Wei G. Recent advances in the synthesis and applications of graphene–polymer nanocomposites. *Polym. Chem.* 2015, 6, 6107–6124

## **7. SAŽETAK/SUMMARY**



## 7.1. SAŽETAK

Mesalazin je protuupalni lijek koji se koristi u liječenju upalnih bolesti crijeva. Strukturno je sličan salicilatima i ostalim nesteroidnim protuupalnim lijekovima te je aktivni oblik sulfasalazina. Indikacije za ovaj lijek su liječenje akutnih pogoršanja i održavanje remisije kod Chronove bolesti i ulcerativnog kolitisa.

U ovom radu su se ispitivala elektroanalitička svojstva mesalazina uz pomoć tehnika cikličke i pravokutnovalne voltametrije u različitim pH vrijednostima osnovnog analita te koristeći različite modifikacije površine elektrode od staklastog ugljika (GCE). Cilj rada bio je proučiti elektrokemijsko ponašanje mesalazina uporabom različitih nanomaterijala kao modifikacija površine elektrode i utvrditi mogu li dobiveni rezultati poslužiti u razvoju nove analitičke metode za istovremeno određivanje mesalazina i folne kiseline.

Snimanjem cikličkih i pravokutnovalnih voltamograma utvrđeno je kako je pH 6 osnovnog elektrolita, tj. Britton-Robinsonova pufera, najpovoljniji za položaj oksidacijskog pika mesalazina, koji se javlja na potencijalu od oko 0,25 V, s obzirom na stabilnost i voltametrijski odgovor folne kiseline. Također je utvrđeno kako je oksidacija mesalazina pri tom pH reverzibilan proces. Nadalje, modifikacijom površine GCE različitim nanomaterijalima utvrđeno je kako se najbolji rezultati postižu korištenjem suspenzije višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s vezanim amino skupinama (MWCNT/NH<sub>2</sub>) u 0,5%-tnom kitozanu u 1%-tnoj octenoj kiselini. Uz to, važan čimbenik za odaziv elektrode je i koncentracija nanomaterijala u suspenziji koja se nanosi na površinu elektrode. Najbolji signal uz najmanji pozadinski šum dobiven je modificiranjem površine GCE s navedenom suspenzijom u kojoj su MWCNT/NH<sub>2</sub> bile u koncentraciji od 2 mg/mL te se za daljnja istraživanja preporučuje uporaba upravo tog nanomaterijala u navedenoj koncentraciji kao modifikator površine GCE s najpovoljnijim učinkom na ishode mjerenja.

## 7.1. SUMMARY

Mesalazine is an anti-inflammatory drug used to treat inflammatory bowel diseases. It is structurally similar to salicylates and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and is an active form of sulfasalazine. Indications for this drug are the treatment of acute exacerbations and maintenance of remission in Chron's disease and ulcerative colitis.

In this thesis, the electroanalytic properties of mesalazine were investigated using cyclic and square-wave voltammetry techniques at different pH values of the basic electrolyte and using various surface modifications of glassy carbon electrode (GCE). The aim of the study was to investigate the electrochemical behavior of mesalazine using various nanomaterials as electrode surface modifiers and to determine whether the obtained results can be used to develop a new analytical method for simultaneous determination of mesalazine and folic acid.

By capturing cyclic and squarewave voltammograms, it was found that the pH value 6 of the base electrolyte, i.e., the Britton-Robinson R buffer is most favorable for the position of the mesalazine oxidation peak, which appears at a potential of about 0.25 V, with respect to the stability and voltammetric response of the folic acid. It was also found that the oxidation of mesalazine at this pH value is a reversible process. Furthermore, when modifying the surface of GCE with different nanomaterials, the best results were obtained by using a suspension of multi-walled carbon nanotubes functionalized with amino groups (MWCNT/NH<sub>2</sub>) in a solution of 0.5% chitosan in 1% acetic acid. In addition, an important factor for the response of the electrode is the concentration of nanomaterials in the suspension applied to the surface of the electrode. The best signal with the lowest background noise was obtained by modifying the surface of GCE with suspension in which MWCNT/NH<sub>2</sub> was at a concentration of 2 mg/mL, and further research recommends the use of this nanomaterial at said concentration as a GCE surface modifier with the most favorable effect on measurement outcomes.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za analitiku i kontrolu lijekova  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

### UTJECAJ VRSTE NANOMATERIJALA I POLIMERNOG MATRIKSA NA VOLTAMETRIJSKI ODGOVOR MESALAZINA

Marin Tandara

#### SAŽETAK

Mesalazin je protuupalni lijek koji se koristi u liječenju upalnih bolesti crijeva. Strukturno je sličan salicilatima i ostalim nesteroidnim protuupalnim lijekovima te je aktivni oblik sulfasalazina. Indikacije za ovaj lijek su liječenje akutnih pogoršanja i održavanje remisije kod Chronove bolesti i ulcerativnog kolitisa.

U ovom radu su se ispitivala elektroanalitička svojstva mesalazina uz pomoć tehnika cikličke i pravokutnovalne voltametrije u različitim pH vrijednostima osnovnog analita te koristeći različite modifikacije površine elektrode od staklastog ugljika (GCE). Cilj rada bio je proučiti elektrokemijsko ponašanje mesalazina uporabom različitih nanomaterijala kao modifikacija površine elektrode i utvrditi mogu li dobiveni rezultati poslužiti u razvoju nove analitičke metode za istovremeno određivanje mesalazina i folne kiseline.

Snimanjem cikličkih i pravokutnovalnih voltamograma utvrđeno je kako je pH 6 osnovnog elektrolita, tj. Britton-Robinsonova pufera, najpovoljniji za položaj oksidacijskog pika mesalazina, koji se javlja na potencijalu od oko 0,25 V, s obzirom na stabilnost i voltametrijski odgovor folne kiseline. Također je utvrđeno kako je oksidacija mesalazina pri tom pH reverzibilan proces. Nadalje, modifikacijom površine GCE različitim nanomaterijalima utvrđeno je kako se najbolji rezultati postižu korištenjem suspenzije višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s vezanim amino skupinama (MWCNT/NH<sub>2</sub>) u 0,5%-tnom kitozanu u 1%-tnoj octenoj kiselini. Uz to, važan čimbenik za odziv elektrode je i koncentracija nanomaterijala u suspenziji koja se nanosi na površinu elektrode. Najbolji signal uz najmanji pozadinski šum dobiven je modifikiranjem površine GCE s navedenom suspenzijom u kojoj su MWCNT/NH<sub>2</sub> bile u koncentraciji od 2 mg/mL te se za daljnja istraživanja preporučuje uporaba upravo tog nanomaterijala u navedenoj koncentraciji kao modifikator površine GCE s najpovoljnijim učinkom na ishode mjerenja.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 44 stranice, 27 grafička prikaza, 1 tablicu i 39 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: mesalazin, ciklička voltametrij, pravokutnovalna voltametrij, elektroda modificirana nanomaterijalima

Mentor: **Dr. sc. Biljana Nigović**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Biljana Nigović**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Miranda Sertić**, docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

**Dr. sc. Sandra Jurić**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: srpanj 2019.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of Pharmaceutical Analysis  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### IMPACT OF THE TYPE OF NANOMATERIAL AND POLYMER MATRIX ON THE VOLTAMMETRIC RESPONSE OF MESALAZINE

**Marin Tandara**

#### SUMMARY

Mesalazine is an anti-inflammatory drug used to treat inflammatory bowel diseases. It is structurally similar to salicylates and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and is an active form of sulfasalazine. Indications for this drug are the treatment of acute exacerbations and maintenance of remission in Chron's disease and ulcerative colitis.

In this thesis, the electroanalytic properties of mesalazine were investigated using cyclic and square-wave voltammetry techniques at different pH values of the basic electrolyte and using various surface modifications of glassy carbon electrode (GCE). The aim of the study was to investigate the electrochemical behavior of mesalazine using various nanomaterials as electrode surface modifiers and to determine whether the obtained results can be used to develop a new analytical method for simultaneous determination of mesalazine and folic acid.

By capturing cyclic and squarewave voltammograms, it was found that the pH value 6 of the base electrolyte, i.e., the Britton-Robinson R buffer is most favorable for the position of the mesalazine oxidation peak, which appears at a potential of about 0.25 V, with respect to the stability and voltammetric response of the folic acid. It was also found that the oxidation of mesalazine at this pH value is a reversible process. Furthermore, when modifying the surface of GCE with different nanomaterials, the best results were obtained by using a suspension of multi-walled carbon nanotubes functionalized with amino groups (MWCNT/NH<sub>2</sub>) in a solution of 0.5% chitosan in 1% acetic acid. In addition, an important factor for the response of the electrode is the concentration of nanomaterials in the suspension applied to the surface of the electrode. The best signal with the lowest background noise was obtained by modifying the surface of GCE with suspension in which MWCNT/NH<sub>2</sub> was at a concentration of 2 mg/mL, and further research recommends the use of this nanomaterial at said concentration as a GCE surface modifier with the most favorable effect on measurement outcomes.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 44 pages, 27 figures, 1 table and 39 references. Original is in Croatian language.

Keywords: mesalazine, cyclic voltammetry, square-wave voltammetry, nanomaterial-modified electrode

Mentor: **Biljana Nigović, Ph.D. Full Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Biljana Nigović, Ph.D. Full Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Miranda Sertić, Ph.D. Assistant Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Sandra Jurić, Ph.D. Associate Professor**, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: July 2019.