

# Elektroanalitička svojstva ondansetrona na elektrodi izmijenjenoj različitim nanomaterijalima

---

Jakčin, Antun

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:163:500464>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-20**



Repository / Repozitorij:

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



**Antun Jakčin**

**Elektroanalitička svojstva ondansetrona na  
elektrodi izmijenjenoj različitim  
nanomaterijalima**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2020.

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.

*Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof. dr. sc. Biljani Nigović, na stručnom vodstvu, prenesenom znanju, pomoći i susretljivosti tijekom izvođenja i pisanja ovog diplomskog rada. Najviše zahvaljujem svojoj obitelji i Luciji jer su bili moja najveća podrška i motivacija kroz cijeli period studiranja. Također hvala i svim prijateljima koji su bili uz mene tijekom studiranja i koji su učinili studentski život zabavnijim i ljepšim.*

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Ondansetron .....	2
1.2. Pantoprazol.....	4
1.3. Paracetamol .....	6
1.4. Elektroanalitičke metode.....	9
1.4.1. Voltometrija.....	10
1.4.1.1. Ciklička voltometrija.....	12
1.4.1.2. Pravokutnovalna voltometrija .....	14
1.4.2. Krute elektrode.....	16
1.4.2.1. Elektroda od staklastog ugljika.....	17
1.4.3. Nanomaterijali.....	18
1.4.3.1. Ugljikovi nanomaterijali .....	19
2. OBRAZLOŽENJE TEME.....	23
3. MATERIJALI I METODE.....	25
3.1. Kemikalije .....	26
3.2. Radni instrumenti .....	27
3.3. Priprema otopina i suspenzija nanomaterijala .....	28
3.3.1. Britton-Robinson pufer .....	28
3.3.2. Suspenzije nanomaterijala.....	28
3.3.3. Otopine ondansetrona, pantoprazola i paracetamola .....	29
3.4. Priprema elektroda i uvjeti mjerenja.....	31
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	33
5. ZAKLJUČCI.....	56
6. LITERATURA .....	58
7. SAŽETAK/SUMMARY .....	63

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA  
BASIC DOCUMENTATION CARD

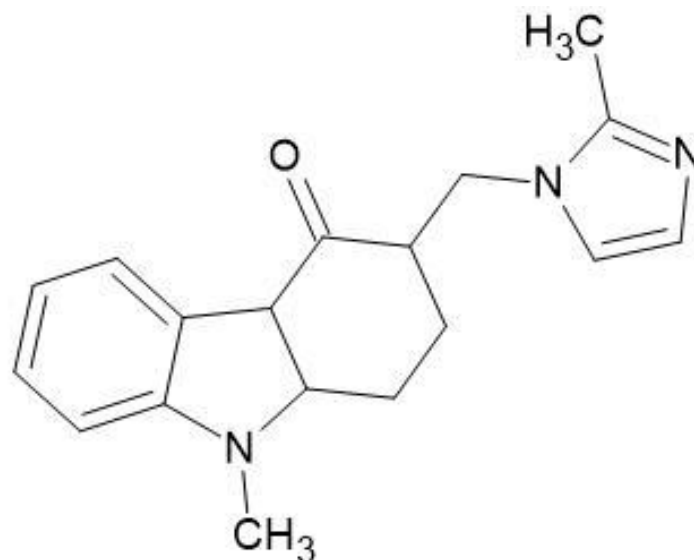
# 1. UVOD

## 1.1. Ondansetron

Ondansetron je selektivni antagonist receptora 5-hidroksitriptamina 5HT<sub>3</sub> koji je uveden u kliničku praksu kao antiemetik protiv mučnine i povraćanja povezanih s liječenjem karcinoma i anestezijom (Ye i sur., 2001). Razvijen u 1980-ima od strane GlaxoSmithKline i odobren od američkog FDA od siječnja 1991., ondansetron je pokazao dugu povijest uporabe i djelotvornosti ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)).

Ondansetron je prema ATK klasifikaciji lijekova svrstan u skupinu A04AA01 – Lijekovi s djelovanjem na probavni sustav i mijenu tvari – Lijekovi za suzbijanje mučnine i nagona na povraćanje – Antiemetici i pripravci za suzbijanje mučnine – Antagonisti serotonina (5 HT<sub>3</sub>) – Ondansetron ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)). Uobičajeno formuliran kao oralne tablete, oralno raspadljive tablete i injekcije, a dostupan je i kao generički proizvodi, za ondansetron i dalje postoje suvremene inovacije u formulaciji i upotrebi, uključujući razvoj oralno topljivih filmova koji su istovremeno diskretni u primjeni i manje opterećuju pacijenta jer nemoraju gutati tablete tijekom povraćanja ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)). Na hrvatskom tržištu imamo oralne pripravke s 4 i 8 mg ondansetrona te 2mg/ml otopinu za injekciju/infuziju. Zasad je ondansetron indiciran u liječenju mučnine i povraćanja uzrokovanih citotoksičnom kemoterapijom i radioterapijom te prevenciji i liječenju postoperativne mučnine i povraćanja ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)). Nadalje, nedavna istraživanja na životinjama i ljudima odražavaju i njegovu moguću novu primjenu u liječenju drugih bolesnih stanja, poput alkoholizma, ovisnosti o kokainu, sindroma ukidanja opioda, anksioznih poremećaja, poremećaja pokretljivosti probavnog sustava, Touretteovog sindroma i svrbeža (Ye i sur., 2001).

Što se tiče fizikalno-kemijskih karakteristika ondansetron je krutina molekulske formule C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O i molarne mase 293,4 g/mol (Slika 1). Talište mu je pri 231-232 °C, a topljivost u vodi 0,3551 mg/L pri 25 °C ([pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)).



Slika 1. Ondansetron

Ondansetron je visoko specifični i selektivni antagonist serotoniniskog 5-HT<sub>3</sub> receptora te nije pokazano da ima aktivnost na drugim poznatim serotoniniskim receptorima i s niskim afinitetom za dopaminske receptore. Serotoniniski 5-HT<sub>3</sub> receptori smješteni su na živčanim završecima vagusa na periferiji i centralno u kemoreceptorskoj okidačkoj zoni u području area postrema ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)). Najviša koncentracija ondansetrona u plazmi iznosi približno 30 µg/L i događa se 1 - 1,5 sati nakon oralne primjene doze od 8 mg. Lijek je oko 60% bioraspoloživ nakon oralne primjene zdravim volonterima i vezan je na proteine od 70 do 76%. Prividni volumen raspodjele je 160 L, a srednji poluživot eliminacije je 3 sata. Ondansetron je podvrgnut velikom metabolizmu jetre, a bubrežni klirens čini manje od 5% ukupnog klirensa (Markham i Sorkin, 1993). Studije metabolizma in vitro pokazale su da je ondansetron supstrat enzima humanih jetrenih citokroma P450, uključujući CYP1A2, CYP2D6 i CYP3A4 8, 9, 10. U pogledu ukupnog metaboliziranja ondansetrona, CYP3A4 imao je dominantnu ulogu ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)).

Najčešće prijavljene nuspojave (koje se javljaju kod više od 10% odraslih osoba) uključuju glavobolju, umor, suha usta, nelagodu i zatvor. Iako su tipično klinički neznatne, mogu se vidjeti promjene intervala u EKG-u, poput QT produženja. Ove se promjene obično događaju u roku od 1 do 2 sata nakon primjene, a povratak na početnu vrijednost je unutar 24 sata. Kao i kod svih lijekova koji uzrokuju produženje QT-a, postoji zabrinutost za Torsade de Pointes i druge aritmije. Serotoniniski sindrom je još jedan prijavljeni rizik koji se može pojaviti



tijekom uzimanja ondansetrona, iako najveći rizik postoji ako se uzima zajedno s drugim serotonergičkim lijekovima (Griddine i Bush, 2020).

Trenutno je korišteno nekoliko analitičkih metoda za određivanje ondansetrona u biološkim uzorcima ili farmaceutskim pripravcima, poput HPLC-a kombiniranog s masenom spektrometrijom ili UV detekcijom, superkritične tekućinske kromatografije/tandem-masene spektrometrije, HPTLC, spektrofotometrije, radioimunoanalize i kapilarnozonske elektroforeze. Međutim, većina ovih metoda su dugotrajne, intenzivna im je upotreba otapala, skupe su i uključuje složene pripreme uzoraka ili, s druge strane, pate od slabe selektivnosti (Nigović i sur., 2014). U literaturi je jako malo elektrokemijskih voltametrijskih metoda za određivanje ondansetrona i većinom se temelje na elektrodi od staklastog ugljika (Nigović i sur., 2014) ili elektrodi od ugljikove paste (Varchenko i sur., 2014).

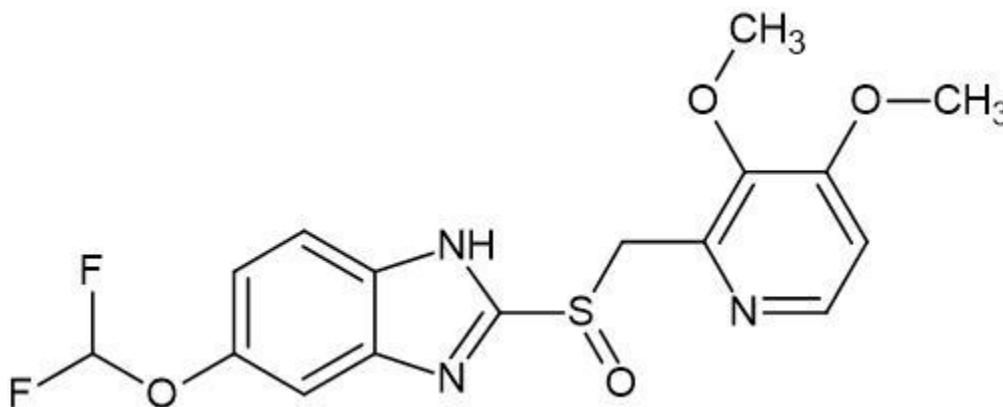
## 1.2. Pantoprazol

Pantoprazol je supstituirani benzimidazolni sulfoksid, prvi je od nove klase lijekova nazvane inhibitori kisele protonske pumpe, koji kontroliraju izlučivanje želudačne kiseline inhibicijom želučane  $H^+, K^+$ ATP-aze, enzima odgovornog za posljednji korak u izlučivanje klorovodične kiseline od strane želučanih parijetalnih stanica (Erk, 2003). Uobičajeni lijekovi za liječenje poremećaja povezanih s želučanom kiselinom uključuju antacide, antagoniste  $H_2$  receptora i inhibitore protonske pumpe (engl. proton pump inhibitors, PPI) (Manjunatha i sur., 2018). Inhibitori protonske pumpe najpotentniji su inhibitori želučane kiseline koji su dostupni i značajno su učinkovitiji od antagonista histaminskih  $H_2$  receptora (Fock i sur., 2008). Danas postoji značajan niz dokaza koji pokazuju poboljšanu učinkovitost PPI-a u odnosu na antagoniste histaminskih  $H_2$  receptora i druge lijekove kod poremećaja povezanih s želučanom kiselinom (Richardson i sur., 1998).

Pantoprazol je prema ATK klasifikaciji lijekova svrstan u skupinu A02BC02 – Lijekovi s djelovanjem na probavni sustav i mijenu tvari – Antacidi, lijekovi za liječenje ulkusne bolesti, lijekovi s djelovanjem na peristaltiku – Pripravci za liječenje peptičkog ulkusa i GERB – Inhibitori protonske pumpe – Pantoprazol. Na hrvatskom tržištu registrirano je 5 lijekova iz skupine inhibitora protonske pumpe i to su: pantoprazol, omeprazol, lansoprazol, rabeprazol i esomeprazol. Dolaze u obliku želučanootpornih tableta i kapsula te prašaka za otopinu infuzije/injekcije ([www.mediately.co](http://www.mediately.co)). Koristi se za liječenje gastrointestinalnih stanja

posebice peptičke ulceracije, Zollingerov-Ellison-ovog sindroma i refluksnog ezofagitis, a vrlo je učinkovit i protiv *Helicobacter pylori* infekcije sam ili u kombinaciji s lijekovima kao što su metronidazol, klaritromicin ili amoksisilin (Mostafa i sur., 2011).

Što se tiče fizikalno-kemijskih karakteristika pantoprazol je krutina molekulske formule  $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$  i molarne mase 383,4 g/mol (Slika 2). Talište mu je pri 149 – 150 °C, a vrelište pri  $589,6 \pm 60$  °C pri 760 mmHg, a topljivost u vodi iznosi 48 mg/L pri 25 °C (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov). Pantoprazol je nestabilan pri niskim vrijednostima pH. Najveća stabilnost ovog lijeka postiže se pri pH vrijednosti iznad 5,5. Stoga se pantoprazol komercijalno formulira kao želučanootporna tableta ili kapsula (Mostafa i sur., 2011).



Slika 2. Pantoprazol

Inhibitori protonске pumpe, poput pantoprazola, supstituirani su derivati benzimidazola, slabe baze, koji se akumuliraju u kiselom prostoru parijetalne stanice prije nego što se prebace u canalicule (male kanale) u kiseloj sredini i tu pređu u aktivne derivate sulfenamida. Ovaj aktivni oblik tada čini disulfidne veze s važnim cisteinima na želučanoj protonskoj pumpi, inhibirajući njihovu funkciju. Konkretno, pantoprazol se veže na sulfhidrilnu skupinu H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP-aze. Enzim se inaktivira i pritom inhibira lučenje želučane kiseline (www.drugbank.ca). Pantoprazol se brzo apsorbira i maksimalna koncentracija u plazmi postiže se već nakon pojedinačne oralne doze od 40 mg. Maksimalna koncentracija u serumu od 2-3 mg/mL prosječno se postiže oko 2,5 sata nakon primjene. Apsolutna bioraspoloživost iz tablete iznosi oko 77%. Vežanje pantoprazola za proteine seruma iznosi oko 98%. Volumen raspodjele je oko 0,15 L/kg. Pantoprazol se gotovo isključivo metabolizira u jetri. Glavni metabolički put je demetilacija putem CYP2C19 s posljedičnom konjugacijom sulfatima. Ostali metabolički put

uključuje oksidaciju putem CYP3A4. Poluvrijeme eliminacije je oko 1 sat. Metaboliti pantoprazola najvećim se dijelom izlučuju putem bubrega (oko 80%), a ostatak se izlučuje fecesom ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)).

Najčešće prijavljene nuspojave su glavobolja, proljev i bol u trbuhu (Poole, 2001). Dugotrajna primjena PPI-ja kao što je pantoprazol povezana je s mogućim štetnim učincima, uključujući povećanu osjetljivost na bakterijske infekcije (uključujući gastrointestinalni *C. difficile*), smanjenu apsorpciju mikronutrijenata, uključujući željezo i B12, i povećan rizik od razvoja hipomagnezimije i hipokalcemije što može pridonijeti osteoporozi i lomovima kostiju kasnije u životu ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)).

Ranije je korišteno nekoliko metoda za određivanje pantoprazola u farmaceutskim dozirnima oblicima i biološkim tekućinama, uključujući UV-vidljivu spektrofotometriju, spektrofluorimetriju, visokofrekventnu tankoslojnu kromatografiju, tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti, kapilarnu elektroforezu i elektrokemijske metode (Khashaba i sur., 2017). S obzirom na elektro-oksidacijsku sposobnost pantoprazola, vjerojatno zbog prisutnosti amino grupe u benzimidazolovom prstenu u strukturi, voltametrijske metode trebale biti bolji pristup njegovom analitičkom određivanju jer je dobro poznat da se tim metodama mogu prevladati neki problemi povezani s kromatografskim ili spektroskopskim metodama (Hadi i Ehsani, 2016). Općenito, voltametrijske metode su brže, jednostavnije, jeftinije i osjetljivije od spektrometrijskih i HPLC metode (Erk, 2003). Međutim, na tradicionalnoj površini elektrode, pantoprazol pokazuje spor voltametrijski odgovor. Stoga su uloženi znatni napor u razvoju kemijski modificiranih elektroda kako bi se poboljšao voltametrijski odziv i analitičke performanse za otkrivanje elektroaktivnog organskog spoja (Manjunatha i sur., 2018). U literaturi je zabilježeno malo elektrokemijskih voltametrijskih metoda za određivanje pantoprazola i to se većinom temelje na elektrodi s kapajućom živom (Radi, 2003), elektrodi od staklastog ugljika (Elsied i Mohamed, 2015), ex situ antimonovoj film elektrodi (Nigović i Hocevar, 2013) i elektrodi s ugljikovom pastom (Manjunatha i sur., 2018).

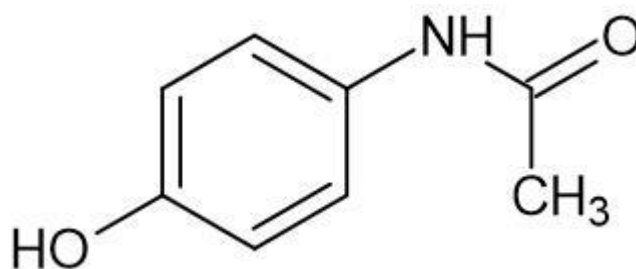
### 1.3. Paracetamol

Acetaminofen (N-acetil-p-aminofenol) poznat i kao paracetamol, je lijek s antipiretskim i analgetskim djelovanjem koji se često koristi u terapiji i koje ima malu toksičnost ako se

koristi u preporučenim dozama (Babaei i sur., 2011). Paracetamol je uobičajeni analgetski i antipiretski lijek koji se koristi za ublažavanje vrućice, glavobolje i ostalih manjih bolova (Bosch i sur., 2006). Najčešći je korišten analgetik u cijelom svijetu i preporučen je kao prva linija terapije boli od Svjetske zdravstvene organizacije (eng. World health organization, WHO) ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)).

Paracetamol je prema ATK klasifikaciji lijekova svrstan u skupinu N02BE01 – Lijekovi s djelovanjem na živčani sustav – Analgetici – Ostali analgetici i antipiretici – Anilidi – Paracetamol. Na hrvatskom tržištu registrirano je jako puno pripravaka s paracetamolom od kojih je većina u bezreceptnom načinu izdavanja ([www.mediatelly.co](http://www.mediatelly.co)). Dostupan je u različitim oblicima, uključujući oblik sirupa, obične tablete, šumeće tablete, injekcije, čepića i drugih oblika. Često se može kombinirati s drugim lijekovima u više od 600 bezreceptnih lijekova protiv alergija, prehlade, lijekova za spavanje, lijekova protiv bolova i drugih proizvoda. Općenito, acetaminofen se koristi za liječenje blage do umjerene boli i sniženje povišene temperature ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)).

Što se tiče fizikalno-kemijskih karakteristika paracetamol je krutina molekulske formule  $C_8H_9NO_2$  i molarne mase 151,16 g/mol (Slika 3). Talište mu je pri 169-170 °C, a vrelište >500 °C, dok mu je topljivost u vodi 14mg/L pri 25 °C što je umjereno te je znatno bolje topljiv u alkoholu (metanol, etanol...) ([pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)).



Slika 3. Paracetamol

Točan mehanizam djelovanja acetaminofena nije u potpunosti utvrđen - usprkos tome, često je kategoriziran uz nesteroidne protuupalne lijekove zbog svoje sposobnosti inhibicije putova ciklooksigenaze (engl. cyclooxygenase, COX). Jedna teorija je da acetaminofen povećava prag boli inhibicijom dvaju oblika ciklooksigenaze, COX-1 i COX-2, koji su uključeni u sintezu prostaglandina. Prostaglandini su odgovorni za izazivanje osjećaja boli. Acetaminofen

ne inhibira ciklooksigenazu u perifernim tkivima te stoga nema periferne protuupalne učinke. Antipiretička djelovanja acetaminofena vjerojatno se pripisuju izravnom djelovanju na centre za regulaciju topline u mozgu, što rezultira perifernom vazodilatacijom, znojenjem i gubitkom tjelesne topline. Pokazalo se da ovaj lijek nema protuupalno djelovanje ([www.drugbank.ca](http://www.drugbank.ca)). Paracetamol se nakon oralne primjene iz probavnog sustava apsorbira brzo i potpuno te postiže najvišu koncentraciju u plazmi nakon 30 do 60 minuta. Oralna bioraspodjelivost iznosi  $88 \pm 15\%$ . Volumen raspodjele u tkivima je 1 L/kg. Paracetamol prolazi kroz posteljicu i krvno-moždanu pregradu; najvišu koncentraciju postiže za 2 do 3 sata nakon primjene. Na bjelančevine u plazmi kod uobičajenih koncentracija veže se 10 do 30% paracetamola, a nakon predoziranja do 50%. Paracetamol se u organizmu metabolizira na dva načina. Većinom se metabolizira u jetri i konjugira s glukuronskom kiselinom (60%), sulfatom (30%) i cisteinom (3%). Manje količine paracetamola metabolizira enzim citokromoksidaza P450. U tom procesu nastaje aktivni metabolit N-acetil benzokinonimin, koji se veže s glutationom i izlučuje kao merkapturna kiselina ili se veže za cistein. Ako su ove zalihe iscrpljene, aktivni metabolit veže se uz sulfhidrilne skupine u jetrenim stanicama i uzrokuje njihovo oštećenje. U bolesnika koji uzimaju doze veće od 150 mg/kg tjelesne mase i već imaju oštećenje jetre, metabolizam paracetamola odvija se preko citokromoksidaze. Zbog intenzivnog metabolizma, vrijeme poluživota paracetamola je kratko, približno 2 sata. Tijekom 24 sata mokraćom se izluči 85% paracetamola u obliku metabolita i samo 1% u nepromijenjenom obliku. Predoziranje paracetamolom može rezultirati zatajenjem jetre, encefalopatijom, komom i smrću ([www.halmed.hr](http://www.halmed.hr)). Predoziranje paracetamolom je često i može biti namjerno ili nenamjerno. U zemljama s visokim dohotkom, toksičnost izazvana paracetamolom čest je uzrok akutne ozljede jetre (Chiew i sur., 2018). Nenamjerna toksičnost acetaminofenom čest je problem u cijelom svijetu, a posebno u razvijenijim zemljama. Kako bi se riješili problema, nekoliko je zemalja pokušalo smanjiti rizik predoziranja acetaminofenom smanjujući veličinu pakiranja (Krenzelok, 2009).

Do sada su korištene različite tehnike za detekciju i kvantifikaciju paracetamola, uključujući tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti, UV-Vis spektrofotometriju, kapilarnu elektroforezu, kemiluminiscenciju i titrimetriju. Ove su metode složene, skupe, zahtijevaju prethodnu obradu uzoraka ili slabo selektivne. Međutim, elektrokemijske tehnike poput voltametrije nude veliku osjetljivost, preciznost, nisku cijenu i točnost pored širokog linearnog raspona (Engin i sur., 2014). Pošto je paracetamol elektroaktivni spoj koji se može elektrokemijski oksidirati, elektrokemijski senzori predstavljaju zanimljivu alternativu za

njegovo brzo određivanje. Elektrokemijska oksidacija paracetamola je ireverzibilni proces na konvencionalnim materijalima, ali u prisutnost katalitičkih spojeva poput nanomaterijala na bazi ugljika, metalnih čestica, provodljivih polimera ili njihovih asocijacija, postaje reverzibilna zbog velike brzine prijenosa elektrona (Cernat i sur., 2015). U literaturi je zabilježeno jako puno različitih elektrokemijskih voltometrijskih metoda za određivanje paracetamola koje se većinom temelje na kemijski modificiranim elektrodama od staklastog ugljika (Kutluay i Aslanoglu, 2013), ugljikove paste (Vinay i Nayaka, 2019) i grafita (Patil i sur., 2019).

#### 1.4. Elektroanalitičke metode

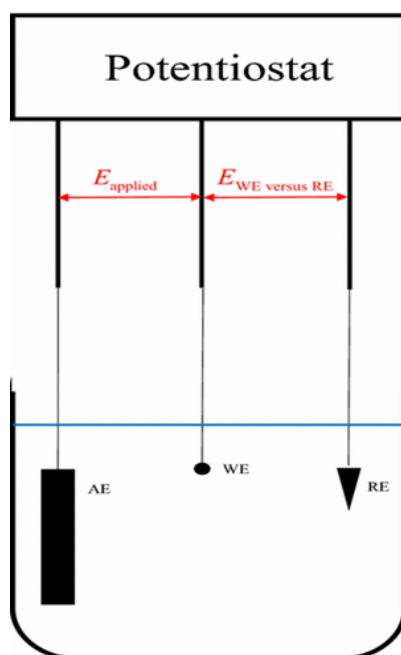
Elektroanalitičke metode čine skupinu analitičkih metoda kod kojih se podatak o koncentraciji, aktivitet u ili drugom termodinamičkom svojstvu određivane molekulske vrste dobiva u ovisnosti o električnom naponu, struji ili naboju. Prema signalu pobude, čija je posljedica odvijanje elektrokemijske reakcije 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, kronopotenciometriju, kulometriju i konduktometriju (Nigović i Behetić, 2007). Elektrokemijske tehnike su već dobro uhodane u analizi ljekovitih tvari i biološki važnih spojeva koji podliježu reakcijama prijenosa elektrona (Nigović, 2009). Ljekovite tvari moraju se reducirati/oksidirati u dosegu promjene potencijala radne elektrode, dok otapalo i elektrode u tom rasponu promjene potencijala moraju biti inertni. Ako ljekovita tvar ne sadrži funkcionalnu skupinu podložnu oksidaciji ili redukciji, derivatizacijom se može prevesti u elektroaktivnu. Funkcionalne grupe, poput nitro, nitrozo, azo, azoksi, azometinske, kao i aktivirani karbonili i dvostruke veze mogu se analizirati elektrokemijski (Nigović i Behetić, 2007). Sve elektroanalitičke metode imaju zajedničko obilježje. Naime, pri provedbi elektroanalitičkoga postupka uvijek se u elektrokemijskoj ćeliji nalazi radna ili indikatorska elektroda na kojoj se odvija elektrokemijska reakcija. Posljedica elektrokemijske reakcije jest analogna električna veličina odnosno odzivni signal. Mjerenjem signala odziva dobivamo željeni analitički ili drugi podatak o ispitivanoj otopini (Piljac, 2010). Elektrokemijske tehnike su snažne i svestrane analitičke tehnike koje pružaju visoku osjetljivost, točnost i preciznost kao i veliku dinamičku linearnost s relativno niskim troškovnim instrumentima (Uslu i Ozkan, 2011). Elektrokemija je brzorastuće područje s nizom mogućih primjena na području

farmacije. Može se koristiti u ranoj fazi istraživanja lijekova i promatranja aktivnosti novo sintetiziranih molekula povezanih s reakcijama prijenosa elektrona. U farmaceutskim istraživanjima i razvoju, elektrokemijske tehnike primjenjuju se u studijama biotransformacije, interakcijama lijekova i proteina i interakcijama lijeka i DNA. Napredak mikroelektroda omogućava in vivo istraživanje procesa koji se događaju unutar bioloških sustava (Nigović, 2009). Također neke elektroanalitičke metode se primjenjuju u Europskoj farmakopeji. Potenciometrijskom titracijom određuje se sadržaj ljekovitih i pomoćnih tvari u mnogim farmakopejskim postupcima. Potenciometrijski se određuje sadržaj onečišćenja u farmaceutskim tvarima (primjerice fluorida u kalcijevom askorbatu i izofluranu, jodida u diosminu). Potenciometrijskim mjerenjem pH vrijednosti ograničavaju se kisela ili lužnata onečišćenja u ljekovitim i pomoćnim tvarima koja potječu iz postupka proizvodnje ili nastaju u razgradnji tvari. Amperometrijskom titracijom određuje se točka ekvivalencije u postupku određivanja vode u ljekovitim tvarima Karl-Fischerovom titracijom (primjerice, u ispitivanju čistoće cefaleksina, betametazon acetata, ciprofloksacin hidroklorida, klindamicin fosfata, itd.). Konduktometrijski se određuje čistoća farmaceutske vode mjerenjem njezine vodljivosti i čistoća farmaceutskih tvari (određivanje onečišćenja ionskim spojevima u ioheksolu, heparinu male molekulske mase, manitolu, sorbitolu, saharozi). Elektrokemijski senzori primjenjuju se u rutinskim analizama, a danas je jedan od najpoznatijih biosenzora na bazi enzima amperometrijski senzor glukoze koji se upotrebljava u kućnoj uporabi i kliničkim laboratorijima za uobičajeno određivanje glukoze u krvi (Nigović i Behetić, 2007).

#### 1.4.1. Voltometrija

Voltometrija je danas opći pojam za sve tehnike u kojima se struja mjeri kao funkcija elektrodnog potencijala. Na početku svog razvoja bio je Jaroslav Heyrovsky, izumitelj voltometrijske tehnike koju je nazvao polarografija. Heyrovsky je koristio kapajuću živinu elektrodu kao radnu elektrodu. Neko vrijeme izrazi voltometrija i polarografija su se koristili kao sinonimi, međutim, danas se polarografija koristi isključivo za voltetriju s kapajućom živinom elektrodom (Scholz, 2015). Ova moćna i svestrana analitička tehnika temelji se na kontinuiranom mijenjanju potencijala primijenjenog na graničnoj površini otopina-elektroda i bilježenju rezultirajuće struje na radnoj elektrodi na kojoj se događa redoks reakcija (Nigović, 2009). Prikaže li se ovisnost struje o potencijalu, dobiva se voltamogram (Nigović i Behetić, 2007). Oblik i vremenska ovisnost amplitude signala pobude može biti različit (Piljac, 2010), tako razlikujemo različite voltometrijske tehnike kao

što su voltometrija s linearnom promjenom potencijala, ciklička, diferencijalna pulsna, pravokutnovalna i stripping voltometrija (Nigović, 2009). Osnovne su jedinice modernog voltometrijskog instrumenta, osim računala, potenciostat i elektrokemijski članak (Slika 4). Zadaća je potenciostata nametnuti potencijal i izmjeriti jakost struje. U voltometrijskim mjerenjima upotrebljavaju se tri elektrode: radna elektroda, pomoćna ili protuelektroda i referentna elektroda. Na radnoj elektrodi se odvija redoks reakcija. Reakcije redukcije najčešće se proučavaju na kapajućoj ili statičnoj živinoj elektrodi, visećoj živinoj kapi ili živinoj film elektrodi. Krute elektrode rabe se za oksidacijske procese. Postoji više vrsta krutih elektroda, npr. staklasta ugljikova elektroda, grafitna elektroda impregnirana voskom, ugljikova, platinska, zlatna elektroda, itd. (Nigović i Behetić, 2007). Referentna elektroda ima poznati i stalni električni potencijal te se koristi za kontrolu potencijala radne elektrode tako što se mjeri napon između njih (Scholz, 2015). Potencijal se mjeri između radne i referentne elektrode (kontrolira se signal pobude), a struja između radne i protuelektrode (mjeri se signal odziva) (Nigović i Behetić, 2007).



Slika 4. Elektrokemijski članak s tri elektrode i potenciostatom:  $E_{\text{applied}}$ -primijenjeni napon, WE-radna elektroda, RE-referentna elektroda, AE-pomoćna elektroda (preuzeto iz Scholz, 2015)

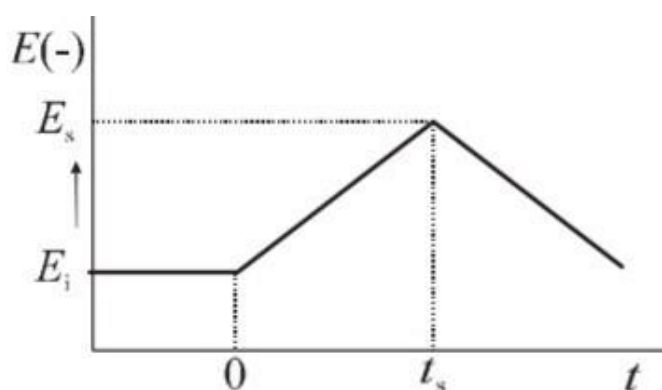
Voltometrijske metode obuhvaćaju široko područje linearnosti ( $10^{-3}$ - $10^{-11}$  M) te se njima mogu analizirati farmaceutske sirovine i ljekovite tvari u različitim doziranim oblicima.



Prednost je tih metoda da većina pomoćnih tvari u farmaceutskom obliku nije elektroaktivna pa stoga ne utječu na voltametrijski odaziv ljekovite tvari. Metode su dovoljno osjetljive i selektivne pa se njima mogu analizirati lijekovi u biološkim tekućinama nakon uobičajenih terapijskih doza. Postoji mogućnost izravnog određivanja lijeka u plazmi ili urinu nakon razrjeđivanja prikladnom otopinom elektrolita. Voltametrijske 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).

#### 1.4.1.1. Ciklička voltametrija

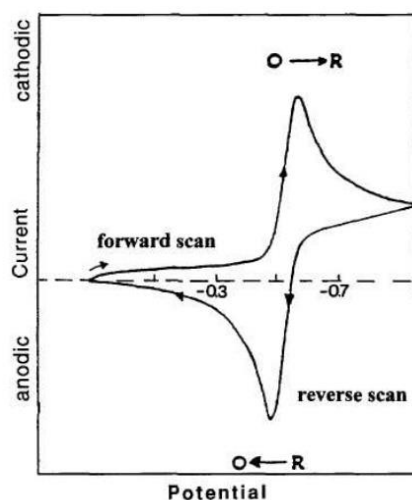
Ciklička voltametrija (engl. cyclic voltammetry, CV) primjenjuje se za istraživanje kinetike i mehanizama redoks reakcija, određivanje redoks potencijala i broja izmijenjenih elektrona, istraživanje adsorpcijskih procesa i kemijskih reakcija koje prethode ili slijede prijenos elektrona. Rijetko se rabi za kvantitativne analize lijekova, jer u optimalnim uvjetima granica detekcije iznosi  $10^{-5}$ - $10^{-6}$  M (Nigović i Behetić, 2007). Ciklička voltametrija je često prvi izvedeni eksperiment u elektroanalitičkim istraživanjima (Wang, 2000). U cikličkoj voltametriji signal pobude mijenja smjer. Zapravo napon signala pobude od početka se mjerjenja negativira, a zatim se kod određenog potencijala ( $E_s$ ) započinje pozitivirati. Promjene su potencijala u oba smjera linearne (Piljac, 2010) (Slika 5)



Slika 5. Signali pobude cikličke voltametrijе (preuzeto iz Piljac, 2010)

Pretpostavljeno je da je samo oksidirani oblik O prisutan na početku. Zato je negativan smjer promjene potencijala izabran za prvi dio ciklusa započinjući s potencijalom na kojem se ne

odvija redukcija. Kako se primjenjeni potencijal približava  $E^0$  za redoks reakciju, katodna struja počinje rasti sve dok ne dosegne vršnu jakost. Nakon što je prijeđen regija potencijala u kojem se događa redukcija (najmanje  $90/n$  mV dalje od vrha), promijeni se smjer promjene potencijala. Tijekom povratnog smjera, R molekule (nastale u polaznoj polovici ciklusa i nakupljene blizu površine) se reoksidiraju nazad u O i nastaje anodni vrh. Nastali graf struje u ovisnosti o potencijalu naziva se ciklički voltamogram (Wang, 2000) (Slika 6).



Slika 6. Tipični ciklički voltamogram za reverzibilnu  $O + ne^- \rightleftharpoons R$  redoks reakciju (preuzeto iz Wang, 2000)

Važni su parametri u cikličkoj voltametriji potencijali vrha redukcije ( $E_{pc}$ ) i oksidacije ( $E_{pa}$ ) i vršne jakosti struje ( $i_{pc}$  i  $i_{pa}$ ). Potencijal vrha je vrijednost karakteristična za svaki spoj, a korelira s njegovom sposobnošću da prima ili daje elektrone. Ako je proces prijenosa elektrona brz, s obzirom na druge procese u otopini (npr. difuziju), reakcija je reverzibilna. Broj izmijenjenih elektrona može se odrediti iz razlike potencijala vrhova:

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

Pri 25 °C, za redoks reakciju prijenosa  $n$  elektrona  $\Delta E_p$  iznosi  $0,0592 / n$  V, odnosno 60 mV za jedan elektron (Nigović i Behetić, 2007). Potencijal vrha je povezan s formalnim potencijalom  $E^0$  reverzibilne redoks reakcije preko izraza (2):

$$E^0 = (E_{pa} + E_{pc}) / 2 \quad (2)$$

pri čemu su  $E_{pa}$  i  $E_{pc}$  potencijali anodnog i katodnog vrha (Nigović, 2009). Vršna jakost struje za reverzibilni redoks par (pri 25°C) je zadana Randles-Ševčikovom jednadžbom (3):

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad (3)$$

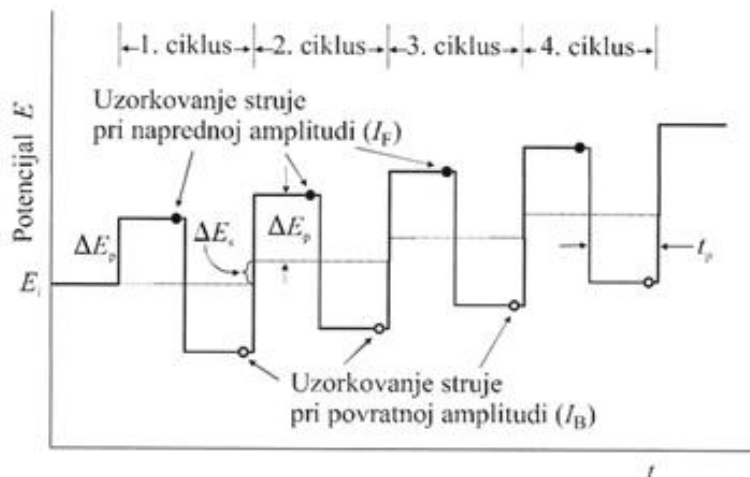
pri čemu je  $n$  broj elektrona,  $A$  je površina elektrode (u  $\text{cm}^2$ ),  $C$  je koncentracija (u  $\text{mol}/\text{cm}^3$ ),  $D$  je difuzijski koeficijent (u  $\text{cm}^2/\text{s}$ ) i  $v$  je brzina promjene potencijala (u  $\text{V}/\text{s}$ ) (Wang, 2000). Jakost struje je direktno proporcionalna koncentraciji molekula koje se mogu oksidirati ili reducirati na površini elektrode. Oba, potencijali katodnog i anodnog vrha ne ovise o brzini promjene potencijala. Elektrokemijska ireverzibilnost uzrokovana je sporom izmjenom elektrona između redoks specije i radne elektrode. Najvažnija karakteristika cikličkog voltamograma ireverzibilnog sustava je odsustvo povratnog pika. Ireverzibilni sustavi daju izraz (4) za vršnu jakost struje:

$$i_p = 2,99 \times 10^5 n (\alpha n_a)^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad (4)$$

Kod kvazi-reverzibilne redoks reakcije, struja je kontrolirana izmjenom elektrona i prijenosom mase. Voltamogram kvazi-reverzibilne redoks reakcije pokazuje šire odijeljenje između potencijala vrhova, nego za reverzibilni sustav (Nigović, 2009).

#### *1.4.1.2. Pravokutnovalna voltometrija*

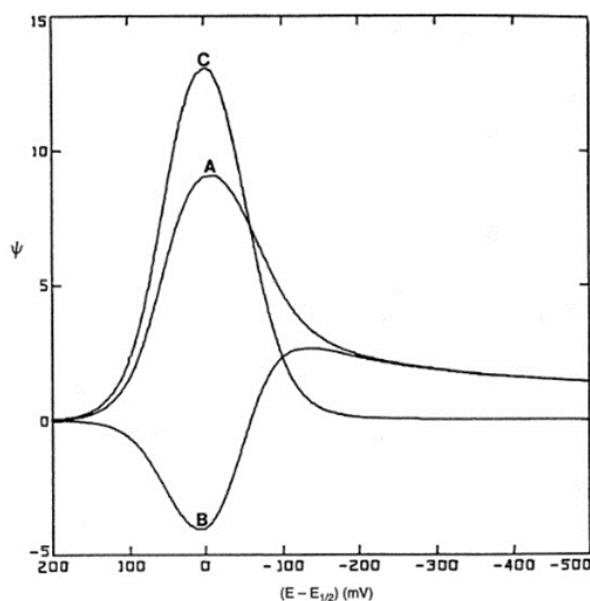
Pravokutnovalna voltometrija (engl. square-wave voltammetry, SWV) je diferencijalna tehnika u kojoj primjenjeni signal pobude na radnu elektrodu, je sastavljen od simetričnog pravokutnog vala frekvencije  $f$  i amplitude  $E_{sw}$  te je superponiran na bazni stepeničasti napon. Svakim ciklusom pravokutnog vala, bazni napon se poveća za  $dE$  (Slika 7) (Nigović, 2009).



Slika 7. Oblik naponskog signala pobude u voltametrije s pravokutnim izmjeničnim signalom pobude (preuzeto iz Piljac, 2010)

Signal pobude može se predočiti kao stubasto rastući napon (u svakom ciklusu za  $\Delta E_s$ ) na koji je superponiran izmjenični naponski pravokutni izmjenični naponski impuls amplitude  $\Delta E_p$ .

Struja se uzorkuje dva puta tijekom svakog ciklusa pravokutnih valova, jednom na kraju polaznog pulsa i jednom na kraju suprotnog pulsa. Rezultantna struja se definira kao razlika polazne i suprotne struje. Osjetljivost je povećana zbog činjenice da je rezultantna struja veća od bilo polazne ili suprotne komponente (Slika 8) (Uslu i Ozkan, 2011).



Slika 8. Pravokutnovalni voltamogram reverzibilnog prijenosa elektrona. Krivulja A: polazna struja. Krivulja B: povratna struja. Krivulja C: razlika struja A i B (preuzeto iz Wang, 2000)

Pravokutnovalna voltometrija omogućuje simultano istraživanje i redukcijskih i oksidacijskih procesa te tako pruža uvid u mehanizam redoks reakcije (Nigović, 2009). Najveća je prednost pravokutnovalne voltometrije 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, dok je kod diferencijalne pulsne voltometrije potrebno nekoliko minuta (Nigović i Behetić, 2007). Zbog svoje osjetljivosti i brzine, SWV je korisna za analizu lijekova u njihovim dozirnim oblicima i biološkim uzorcima (Uslu i Ozkan, 2011). Ova voltometrijska tehnika se također koristi i za detekciju različitih supstancija u tekućinskoj kromatografiji visoke djelotvornosti (HPLC) (Nigović, 2009).

#### 1.4.2. Krute elektrode

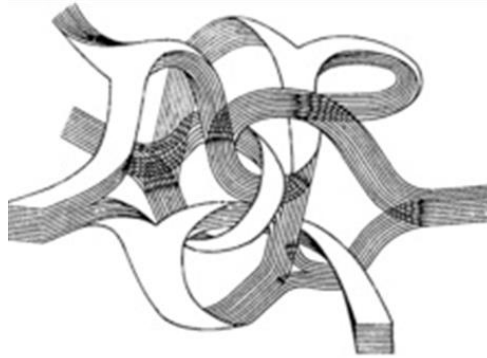
Iako se u prvim elektroanalitičkim aplikacijama koristila kapajuća živina elektroda, eksperimenti s krutim elektrodama znatno su lakši za izvedbu (Ozkan i sur., 2015). Ograničeni anodni raspon potencijala živinih elektroda onemogućio je njihovu korisnost u analitici oksidirajućih tvari. Stoga su krute elektrode s proširenim rasponom potencijala zadobile veliki analitički interes (Wang, 2000). Odabir materijala čvrste elektrode uvelike ovisi o rasponu uporabljivog potencijala elektrode u određenom otapalu. Raspon potencijala unutar kojeg se može koristiti elektroda naziva se prozor radnog potencijala elektrode, jer se samo taj potencijalni raspon može koristiti za analitička mjerenja. Ograničenja su obično određena oksidacijom i redukcijom otapala, npr. u vodenom otapalu zbog kisika i vodika (Ozkan i sur., 2015). Međutim, granice električnoga potencijala u kojima se provodi redukcija (oksidacija) elektroaktivnih vrsta u vodenim otopinama jesu oko 2,5 V. To je određeno redukcijom  $H^+$  iona u elementarni vodik na negativnoj granici i oksidacijom  $OH^-$  u elementarni kisik na pozitivnoj granici, što je tzv. elektrokemijski prozor (Piljac, 2010). Sve veća primjena čvrstih elektroda je zbog činjenice da imaju dobar, ili barem razuman, negativan i pozitivan raspon potencijala u usporedbi s ograničenim, gotovo nepostojećim, pozitivnim rasponom potencijala živine elektrode. Pri odabiru materijala čvrste elektrode moraju se uzeti u obzir dva faktora: redoks ponašanje ispitivanog analita i pozadinska struja krute elektrode unutar raspona potencijala potrebnog za mjerenja (Ozkan i sur., 2015). Druga razmatranja uključuju prozor potencijala, električnu vodljivost, površinsku reproducibilnost, mehanička svojstva, trošak, dostupnost i toksičnost (Wang, 2000). Za konstrukciju radnih

elektroda koriste se različiti čvrsti materijali poput metala, različitih oblika ugljika i površinski modificiranih elektroda, a rjeđe metalnih oksida i provodnih polimera (Ozkan i sur., 2015). Čvrste elektrode mogu biti nepomične ili rotirajuće, obično u obliku planarnog diska (Wang, 2000). Nedostatci čvrstih elektroda jesu slaba reprodukcija radne površine i njezino lako onečišćenje (Piljac, 2010). Iz tog razloga i kako bi se osigurala dobra reproducibilnost obično je potrebna predobrada površine. Mehanička predobrada do ugladenog zrcala postiže se abrazivnim sredstvima, poput dijamantskog spreja ili suspenzije aluminijevog oksida (glinica), ovisno o tvrdoći materijala elektrode, na polirnim stolovima ili tkaninama. Elektrokemijska predobrada obično se postiže cikličkom promjenom potencijala elektrode između odabranih granica u osnovnom elektrolitu sve dok se ne postigne osnovna vrijednost ustaljenog stanja. Cilj ovog postupka je aktiviranje i oksidacija ili redukcija nečistoća ili nepoželjnih funkcionalnosti na površini krute elektrode (Ozkan i sur., 2015). U voltametrijskim analizama lijekova upotrebljavaju se modificirane vrste elektrode koje povećavaju osjetljivost i selektivnost. Površina elektrode može se promijeniti elektrokemijskom aktivacijom, primjenom ultrazvuka ili kemijskim načinima. Primjena modificiranih elektroda jako je dobra u složenim biološkim uzorcima (Nigović i Behetić, 2007).

#### *1.4.2.1. Elektroda od staklastog ugljika*

Krute elektrode zasnovane na ugljiku su trenutno u širokoj upotrebi u elektroanalitici, ponajviše zbog svog širokog raspona potencijala, niske pozadinske struje, bogate površinske kemije, niske cijene, kemijske inertnosti i prikladnosti za različite kvalitativne i kvantitativne metode. Iako svi često korišteni ugljikovi materijali u elektrodama imaju osnovnu strukturu šesteročlanog aromatskog prstena i  $sp^2$  hibridizaciju, razlikuju se u relativnoj gustoći rubova i baznih ravnina na svojim površinama. Materijali s različitim rub: bazna ravnina omjerima pokazuju različitu kinetiku prijenosa elektrona za određenu redoks reakciju. Najpopularniji ugljikovi materijali u primjeni uključuju staklasti ugljik, ugljikovu pastu, ugljikova vlakna, film, trake, grafit impregniran voskom i druge. (Wang, 2000). Visoka površinska aktivnost ugljičnih materijala objašnjava njihovu podložnost trovanju adsorpcijom organskih spojeva, a posebno elektroaktivnih farmaceutskih spojeva (Ozkan i sur., 2015).

Staklasti ugljik (engl. glassy carbon, GC) je popularan materijal u izradi krutih elektroda zbog svojih izvrsnih mehaničkih i električkih svojstava, širokog raspona potencijala, kemijske inertnosti i reproducibilnosti. Materijal se priprema pažljivim zagrijavanjem predmodelirane polimerne smole u inertnoj atmosferi. Struktura staklastog ugljika se sastoji od tankih i smotanih trakica poprečno povezanih slojeva grafita (Slika 9).



Slika 9. Struktura staklastog ugljika (preuzeto iz Jenkins i Kawamura, 1971)

Zbog svoje velike gustoće i male veličine pora, elektrode od staklastog ugljika ne zahtijevaju proces impregnacije. No, predobrada površine je potrebna kako bi se osigurala aktivna i reproducibilna elektroda od staklastog ugljika i kako bi se ubrzalo analitičko izvođenje. Takva predobrada je postignuta poliranjem s aluminijskim česticama promjera oko  $0,05 \mu\text{m}$  na polirnoj tkanini. Elektroda bi još onda trebala biti i ispirana deioniziranom vodom prije upotrebe. Dodatni aktivacijski koraci se također koriste da bi poboljšali učinak, a to su elektrokemijska, kemijska, toplinska i laserska predobrada. (Wang, 2000). Elektroda od staklastog ugljika je izuzetno otporna na mnoge kemikalije, posebno ako se priprema na vrlo visokim temperaturama. Samo jaka oksidacijska sredstva poput kisika na povišenoj temperaturi ili vruće taline ili jake oksidirajuće kiseline mogu napasti stakleni ugljik. Ali čak je i u tim okolnostima vjerojatno najinertniji materijal na bazi ugljika (Ozkan i sur., 2015).

### 1.4.3. Nanomaterijali

Posebna svojstva radne elektrode, prikladne za specifičnu uporabu, mogu se ostvariti kemijskom modifikacijom površine radne elektrode. Na površinu elektrode nanosi se sloj (film) kojim se ostvaruje svojstvo elektrode različito od svojstva izvorne elektrode. Danas se sve više rabi modifikacija površine elektroda s ultrafino dispergiranim tvarima (metali, ugljik, anorganski spojevi), tzv. nanočesticama (Piljac, 2010). Nanomaterijali su privukli veliku pažnju zbog svojih jedinstvenih svojstava koja ih razlikuju od tradicionalnih materijala. Zbog

svojih prednosti, sve više nanomaterijala primjenjuje se u modifikaciji elektrokemijskih senzora (Wang i sur., 2018). Nanomaterijali veličine ili značajki u rasponu od 1 do 100 nm u jednoj ili više dimenzija privukli su snažan znanstveni i tehnološki interes posljednjih godina. Oni su pokazali veliko obećanje u mnogim aplikacijama u analitičkoj kemiji, kao što je izrada uzoraka, odvajanje i u senzorskim sustavima zbog neobičnih mehaničkih, električnih, elektroničkih, optičkih, magnetskih, površinskih i bioloških svojstava koja se ne nalaze u konvencionalnim materijalima. Osim visoke mehaničke čvrstoće, male težine, jedinstvene veličine i strukture, njihovih površinskih svojstava (područje, hrapavost, energija i raspodjela elektrona), koji omogućuju poboljšane interakcije s mnogim biološkim entitetima, nude izvrsne izgleda za osmišljavanje novih senzorski sustavi i za poboljšanje performansi bioanalitička ispitivanja (Yang i sur., 2013).

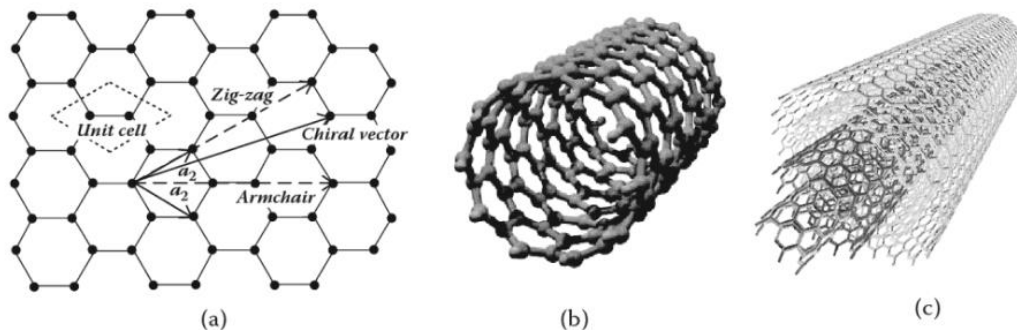
#### *1.4.3.1. Ugljikovi nanomaterijali*

Ugljik je najraniji element koji je čovjek otkrio i koristio. Poznato je da su klasični alotropi ugljika grafit, dijamant i amorfni ugljik već nekoliko tisuća godina. U posljednjih 30 godina otkriveno je nekoliko novih alotropa ugljika (npr. nanodijamant, fulereni, ugljikova nanovlakna, ugljikove nanocijevčice (engl. carbon nanotubes, CNT), grafen i njihovi derivati). Ovi alotropi od ugljika nazvani ugljikovi nanomaterijali (engl. carbon nanomaterials, CN), koji su među nanostrukturiranim materijalima privukli velik interes zbog svojih jedinstvenih mehaničkih, toplinskih i električnih svojstva, kao i zbog biokompatibilnost. Nedavno je priznato da ugljikovi nanomaterijali, uključujući ugljikove nanocijevčice, grafen i njihove derivate, imaju veliki potencijal za razvoj materijala za razne primjene poput adsorbensa, katalizatora, baterija, kondenzatora, elektrokemijskih senzora, nosača za imobilizaciju biomakromolekula i nosača lijekova zbog njihovih jedinstvenih svojstava (uglavnom zbog velikih površina i izvrsnih mehaničkih i elektroničkih svojstva). Fizička, kemijska i elektronička svojstva ugljikovih nanomaterijala snažno su povezana s ugljikovom strukturnom konformacijom i njegovim hibridizacijskim stanjem. Prema teoriji orbitalne hibridizacije, ova promocija omogućuje ugljiku da hibridizira u konfiguraciju sp, sp<sup>2</sup> ili sp<sup>3</sup> na temelju veza (Yang i sur., 2013).

Ugljikove nanocijevčice su zasad najšire upotrijebljen ugljikov nanomaterijal (Vestergaard i sur., 2015). Prvi ih je otkrio Sumio Iijima 1991. godine i pronašao široku mogućnost njihove aplikacije (Iijima, 1991). Ugljikova nanocijevčica je sačinjena od umotanih listova



monoatomskog sloja grafena čija rešetka je opisana na Slika 10.a. Hibridizacija ugljika  $sp^2$  tvori slojevitu strukturu koja ima slabe Van der Waalsove veze van ravnine i jake veze unutar ravnine (Samadishadlou i sur., 2017)



Slika 10. (a) odmotana rešetka ugljikove nanocijevčice (b) SWCNT (c) MWCNT (preuzeto iz Morris i Iniewski, 2013).

Ovisno o broju listova umotanih u koncentrične cilindre, postoje dvije kategorije CNT-a, to su jednoslojne ugljikove nanocijevčice (engl. single-walled carbon nanotubes, SWCNTs) i višeslojne ugljikove nanocijevčice (engl. multi-walled carbon nanotubes, MWCNTs). SWCNTs su sastavljeni od jednog sloja grafena omotanog heksagonalnom cilindričnom konstrukcijom čiji promjer varira od 0,4–3,0 nm, a duljina se kreće od 20–1000 nm, a zajedno ih drže van der Waalsove sile, što ih čini lako okretnim i više savitljivima (Slika 10.b.). MWCNTs se sastoje od nekoliko koaksijalnih cilindara, od kojih je svaki napravljen od jednog grafenskog sloja koji okružuje šuplju jezgru (Slika 10.c.). Vanjski promjer MWCNTs kreće se od 2 do 100 nm, dok je unutarnji promjer u rasponu od 1 do 3 nm, a njihova duljina je od 1 do nekoliko  $\mu\text{m}$ . Zahvaljujući  $sp^2$  hibridizaciji u MWCNTs, nastaje delokalizirani oblak elektrona duž zida koji je odgovoran za  $\pi - \pi$  interakcije između susjednih cilindričnih slojeva u MWCNTs što rezultira da su manje fleksibilni (Porwal i sur., 2017). Ugljikove nanočestice sintetiziraju se trima glavnim tehnikama: arcdischarge, laserskim isparavanjem i uklanjanjem kemijskim isparavanjem (engl. chemical vapor deposition, CVD). Glavnina CNTs na tržištu pripravljena je CVD metodom. Neovisno o metodi sinteze, metalna onečišćenja ostaju i utječu na svojstva CNTs, čak i nakon određenih postupaka pročišćavanja. Zahvaljujući velikoj vanjskoj površini, dobroj provodljivosti, izvrsnoj elektrokatalitičkoj sposobnosti, velikoj površinskoj aktivnosti i dobroj biokompatibilnosti, CNTs se široko koriste u senzorskim aplikacijama. Senzori temeljeni na CNTs općenito posjeduju veću osjetljivost, nižu granicu dokazivanja (engl. limit of detection, LOD) i bržu kinetiku prijenosa

elektrona. Performanse elektroda ovise o metodi sinteze nanocjevčica, modifikaciji CNTs površine, metodi vezivanja elektrode i dodavanju medijatora elektrona. Osobito, funkcionalizacija površina CNTs, koja ne samo da sačuva njihova izvorna svojstva, već i donosi nova svojstva, proširiti će primjenu CNTs u elektroanalizi. Općenito, CNT-ovi se mogu funkcionalizirati kovalentnim i nekovalentnim metodama. Kovalentne funkcionalne skupine uključuju dodavanje karboksilnih grupa nakon oksidacije, na koje se mogu potom vezati različite skupine poput amidne, tiolne ili drugih. Nekovalentne modifikacije CNT-a odnose se na modifikaciju postranih zidova aromatskim strukturama, surfaktantima, polimerima ili hidrofobnim interakcijama čime se isto utječe na elektrokemijske osobine materijala (Yang i sur., 2013). U usporedbi s netaknutim MWCNTs, grafitizirani MWCNTs imaju znatno manji sadržaj površinskih funkcionalnih skupina s kisikom i zato pokazuju drugačije adsorpcijsko ponašanje i snažniju hidrofobnost (Zhang i sur., 2009). Postupak grafitizacije u pripremi grafitiziranih MWCNTs također uklanja zaostali metalni katalizator u nanocjevčicama i smanjuje oštećenja na zidu nanocjevčica što se odražava na smanjenje međusloja između slojeva grafena, dok su strukturni parametri MWCNTs, uključujući unutarnji promjer, vanjski promjer i parametar rešetke ostali isti (Xue i sur., 2017).

MWCNTs su skloni stvaranju aglomerata zbog jakih Van der Waalsovih interakcija kada su dispergirani u vodi ili organskim otapalima. Za prevladavanje ove poteškoće, Nafion je odabran kao vezivo u postupku proizvodnje elektroda. U prisutnosti Nafiona, MWCNTs su homogeno dispergirani u etanolu ultrazvukom. Posljedično, lako je postignut stabilan i jednolik film na površini elektrode nakon isparavanja organskog otapala. Hidrofilna skupina s negativnim nabojem sulfonata u filmu Nafiona, omogućuje selektivnu pretkoncentraciju pozitivno nabijenih molekula lijeka elektrostatskom interakcijom, dok hidrofobna fluorougljikova mreža polimera daje selektivnost za hidrofobni dio molekule (Nigović i sur., 2014).

Grafen je 2D list ugljikovih atoma u heksagonalnoj konfiguraciji s atomima povezanim  $sp^2$  vezama. To je najtanji poznati i najjači dosad izmjereni materijal u svemiru. Grafen se može smatrati osnovnim građevnim blokom CNs svih ostalih dimenzija. Elektroni se mogu slobodno kretati u kristalu grafena zbog postojanja  $\pi$ -orbita u ravnini grafena, zbog čega grafen pokazuje superiorne performanse elektroničkog prijenosa. S druge strane, svaki atom ugljika povezan je sa susjednim atomom ugljika pod djelovanjem jakih  $\sigma$  veza i slabih  $\pi$  veza

što daje grafenu izvrsna mehanička svojstva. U usporedbi s CNTs, grafen pokazuje potencijalne prednosti niske cijene i visoke čistoće (grafen ne sadrži metalne nečistoće kao što to čine CNTs) (Yang i sur., 2013).

## 2. OBRAZLOŽENJE TEME

Ondansetron je jedan je od najvažnijih antiemetik koji se koristi kod liječenja mučnine i povraćanja uzrokovanih citotoksičnom kemoterapijom i radioterapijom ili liječenja postoperativne mučnine i povraćanja. Također pacijenti s opisanim mučninama i povraćanjima, često imaju potrebu i za uzimanjem pantoprazola ili paracetamola sa svrhom smanjenja lučenja želučane kiseline odnosno liječenja umjerene boli i snižavanja povišene tjelesne temperature što se često javlja kao posljedica kemoterapije, raditerapije ili operacija. Zbog toga su na tržištu razvijene fiksne kombinacije ondansetrona i pantoprazola odnosno ondansetrona i paracetamola. Stoga je značajan razvoj analitičkih metoda koje bi simultano određivale ove kombinacije lijekova u višekomponentnim dozirnim oblicima i biološkim uzorcima.

Cilj ovog rada bio je ispitati mogućnosti razvoja potencijalne elektroanalitičke metode za simultano određivanje ondansetrona i pantoprazola te ondansetrona i paracetamola. Općenito prednost elektroanalitičkih tehnika je velika osjetljivost, preciznost, brzina izvođenja te je jeftina. Budući da su sva tri navedena lijeka elektroaktivne molekule koje se mogu oksidirati i pritom dati signal na voltamogramu, odabrana je voltometrija kao metoda.

Ispitivanja su vršena na elektrodi od staklastog ugljika te je ispitivan utjecaj njenih modifikacija različitim nanomaterijalima kao što su modificirane višeslojne ugljikove nanocjevčice, grafen oksid i grafen nanopločice. Također varijacijom pH ispitivane otopine i optimiranjem parametara unutar same voltametrijske metode pokušavala se postići što veća osjetljivost i selektivnost.

### 3. MATERIJALI I METODE

### 3.1. Kemikalije

Za izradu ovog diplomskog rada korištene su sljedeće supstancije:

1. Borna kiselina,  $H_3BO_3$  (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
2. Fosfatna kiselina (85%),  $H_3PO_4$  (Lach-Ner, Neratovice, Češka)
3. Octena kiselina (99,5%),  $CH_3COOH$  (Alkaloid Skopje, Skopje, Makedonija)
4. Natrijev hidroksid,  $NaOH$  (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
5. Ultračista voda (dobivena pomoću Milli-Q sustava, Millipore, Bradford, SAD)
6. Sulfatna kiselina (0,1M),  $H_2SO_4$  ()
7. Ondansetron (Pliva, Zagreb, Hrvatska)
8. Pantoprazol (Pliva, Zagreb, Hrvatska)
9. Paracetamol (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
10. Nafion (Sigma-Aldrich, St. Louis, SAD)
11. Etanol (Badel, Zagreb, Hrvatska)
12. Višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane amino skupinama (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD)
13. Višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane karboksilnim skupinama (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD)
14. Višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane hidroksilnim skupinama (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD)
15. Višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane grafitom (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD) )
16. Grafen oksid (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD)
17. Grafen nanopločice (US Research Nanomaterials, Inc., Houston, SAD)

## 3.2. Radni instrumenti

Za vaganje svih supstancija za izradu otopina i korištenih nanomaterijala upotrijebljena je analitička vaga Mettler Toledo AB-204-S.

Britton-Robinsonovom puferu pH se podešavao na optimalnu vrijednost pomoću pH-metra s kombiniranom staklenom elektrodom (Mettler Toledo) koji se prije upotrebe kalibrira dvjema standardnim otopinama pufera čiji je  $pH_1=4,00\pm 0,01$  te  $pH_2 = 7,00\pm 0,01$ .

Homogeniziranje suspenzija nanomaterijala, ubrzavanje otapanja supstancija u otapalu te čišćenje površine elektrode nakon svakog mjerenja i prije modifikacije površine nanomaterijalima vršeno je na ultrazvučnoj kupelji Elmasonic S 30H Elma.

Sva ciklička i pravokutnovalna voltametrijska mjerenja napravljena su pomoću  $\mu$ -Autolab potencijostata (Eco Chemie) kojim je upravljao računalni program GPES 4.9. Potencijostat je povezan s elektrokemijskim članakom koji se sastoji od radne elektrode, referentne elektrode i protuelektrode. Kao radna elektroda upotrijebljena je sama elektroda od staklastog ugljika te kemijski modificirana elektroda od staklastog ugljika pripremljena nanošenjem suspenzija različitih nanomaterijalima u etanolnoj otopini Nafiona. Kao nanomaterijali korištene su grafitizirane višeslojne ugljikove nanocjevčice, višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane karboksilnim, amino ili hidroksilnim skupinama te smjese grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s grafen oksidom i grafen nanopločicama. Kao referentna elektroda korištena je srebro/srebrov klorid (Ag/AgCl) elektroda, a protuelektroda je bila platinska žica.



### 3.3. Priprema otopina i suspenzija nanomaterijala

#### 3.3.1. Britton-Robinson pufer

Britton-Robinson (BR) pufer je otopina triju kiselina, borne ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), octene ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) i fosfatne ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) koncentracije 0,5 M, a priređuju se na sljedeći način:

- a) 0,5 M borna kiselina priredi se vaganjem 3,0915 g borne kiseline, kvantitativnim prenošenjem pomoću prašćića, te otapanjem pomoću ultračiste vode u odmjerne tikvici od 100,0 mL.
- b) 0,5M octena kiselina priredi se pipetiranjem 2,87 mL 99,5%-tne octene kiseline pomoću graduirane pipete u odmjernu tikvicu od 100,0 mL te nadopunjavanjem ultračistom vodom do oznake.
- c) 0,5M fosfatna kiselina priredi se pipetiranjem 3,37 mL 85%-tne fosfatne kiseline pomoću graduirane pipete u odmjernu tikvicu od 100,0 mL te nadopunjavanjem ultračistom vodom do oznake.

Zatim se u odmjernu tikvicu od 250,0 mL pipetiranjem prenese po 20,00 mL svježe priređenih kiselina te se nadopuni ultračistom vodom do oznake. Tako dobiven BR pufer ima pH vrijednost 1,8, a željeni pH dobiva se dodavanjem određenog volumena 0,2 M otopine NaOH. 0,2 M otopina NaOH pripravljena je vaganjem 2,0 g NaOH, kvantitativnim prenošenjem pomoću prašćića za vaganje u odmjernu tikvicu od 250,0 mL te nadopunom ultračistom vodom do oznake.

#### 3.3.2. Suspenzija nanomaterijala

Najprije se na analitičkoj vagi izvaže zasebno 1 mg višeslojnih ugljikovih nanocjevčica modificiranih amino skupinama, 1 mg višeslojnih ugljikovih nanocjevčica modificiranih karboksilnim skupinama, 1 mg višeslojnih ugljikovih nanocjevčica modificiranih hidroksilnim skupinama i 1 mg grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica. Zatim se svaki od navedenih nanomaterijala kvantitativno prenese u pojedinačne tikvice volumena 5,0 mL te je u svaku pipetirano 1,0 mL 0,3%-tne otopine Nafiona u etanolu. Ta otopina Nafiona dobivena je razrjeđivanjem 300  $\mu\text{l}$  5 %-tne otopine do ukupnog volumena 5 mL.

Koncentracija tako priređenih suspenzija nanomaterijala iznosi 1 mg/mL. Na kraju se suspenzije nanomaterijala stave u ultrazvučnu kupelj na 30 minuta kako bi se homogenizirale.

Pri izradi smjese suspenzija nanomaterijala višeslojnih ugljikovih nanocjevčica modificiranih grafitom s grafen oksidom u omjeru 1:1, najprije se na analitičkoj vagi izvaže zasebno 1 mg grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica i 1 mg grafen oksida. Zatim se oba navedena nanomaterijala kvantitativno prenesu u tikvicu volumena 5,0 mL u koju onda pipetiramo 1,0 mL 0,3%-tne otopine Nafiona u etanolu. Ta otopina Nafiona dobivena je razrjeđivanjem 300 µl 5 %-tne otopine do ukupnog volumena 5,0 mL. Koncentracija tako priređene smjese suspenzija nanomaterijala iznosi 1 mg/mL za oba nanomaterijala. Na kraju se smjesa suspenzija nanomaterijala stavi u ultrazvučnu kupelj na 30 minuta kako bi se homogenizirala. Isti postupak je ponovljen za izradu smjese suspenzija nanomaterijala grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica s grafen nanopločicama u omjeru 1:1.

Suspenzije nanomaterijala čuvaju se u hladnjaku na 4 °C, zatvorene i zaštićene od svjetlosti. Također prije svake upotrebe, suspenzija nanomaterijal se homogenizira pola sata u ultrazvučnoj kupelji.

### 3.3.3. Otopine ondansetrona, pantoprazola i paracetamola

#### 3.3.3.1. Matične otopine

Kao matične otopine korištene su otopine ondansetrona, pantoprazola i paracetamola koncentracije  $2 \times 10^{-3}$  M.

Matična otopina ondansetrona koncentracije  $2 \times 10^{-3}$  M priprema se tako da se prvo izvaže 6,597 mg krutine soli ondansetron hidroklorida ( $M=329,85$  g/mol) na analitičkoj vagi u prašćiću za vaganje te se onda kvantitativno prebaci u odmjernu tikvicu od 10,0 mL i nadopuni ultračistom vodom do oznake. Kako bi prijenos bio kvantitativan, prašćić se isprao ultračistom vodom u tikvicu. Na kraju se tikvica stavi u ultrazvučnu kupelj kako bi se olakšalo otapanje. Otopina se čuva u hladnjaku na 4 °C, zatvorena i zaštićena od svjetlosti.

Matična otopina pantoprazola koncentracije  $2 \times 10^{-3}$  M priprema se tako da se prvo izvaže 8,108 mg krutine soli pantoprazol natrija ( $M=405,4$  g/mol) na analitičkoj vagi u prašćiću za vaganje te se onda kvantitativno prebaci u odmjernu tikvicu od 10,0 mL i nadopuni ultračistom vodom do oznake. Kako bi prijenos bio kvantitativan, prašćić se isprao

ultračistom vodom u tikvicu. Na kraju se tikvica stavi u ultrazvučnu kupelj kako bi se olakšalo otapanje. Otopina se čuva u hladnjaku na 4 °C, zatvorena i zaštićena od svjetlosti.

Matična otopina paracetamola koncentracije  $2 \times 10^{-3}$  M priprema se tako da se prvo izvaže 3,024 mg krutine paracetamola ( $M=151,2$  g/mol) na analitičkoj vagi u praščiću za vaganje te se onda kvantitativno prebaci u odmjernu tikvicu od 10,0 mL i nadopuni etanolom do oznake. Kako bi prijenos bio kvantitativan, praščić se isprao etanolom u tikvicu. Na kraju se tikvica stavi u ultrazvučnu kupelj kako bi se olakšalo otapanje. Otopina se čuva u hladnjaku na 4 °C, zatvorena i zaštićena od svjetlosti.

### 3.3.3.2. Radne otopine

Kao radne otopine korištene su otopine ondansetrona, pantoprazola i otopina smjese ondansetrona i paracetamola.

Radna otopina ondansetrona koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M priprema se tako da se pipetira 1,0 mL matične otopine ondansetrona i prenese u odmjernu tikvicu od 20,0 mL te nadopuni do oznake razrijeđenim Britton-Robinson puferom određene pH vrijednosti ili 0,1 M otopinom sulfatne kiseline

Radna otopina pantoprazola koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M priprema se tako da se pipetira 1,0 mL matične otopine pantoprazola i prenese u odmjernu tikvicu od 20,0 mL te nadopuni do oznake razrijeđenim Britton-Robinson puferom određene pH vrijednosti ili 0,1 M otopinom sulfatne kiseline.

Radna otopina smjese ondansetrona i paracetamola koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M priprema se tako da se pipetira po 1,0 mL matične otopine ondansetrona i matične otopine paracetamola te zatim prenese u odmjernu tikvicu od 20,0 mL te nadopuni do oznake razrijeđenim Britton-Robinson puferom određene pH vrijednosti ili 0,1 M otopinom sulfatne kiseline.

Radna otopina smjese ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M priprema se tako da se pipetira po 500  $\mu$ L matične otopine ondansetrona i matične otopine paracetamola te zatim prenese u odmjernu tikvicu od 20,0 mL te nadopuni do oznake razrijeđenim Britton-Robinson puferom određene pH vrijednosti ili 0,1 M otopinom sulfatne kiseline.

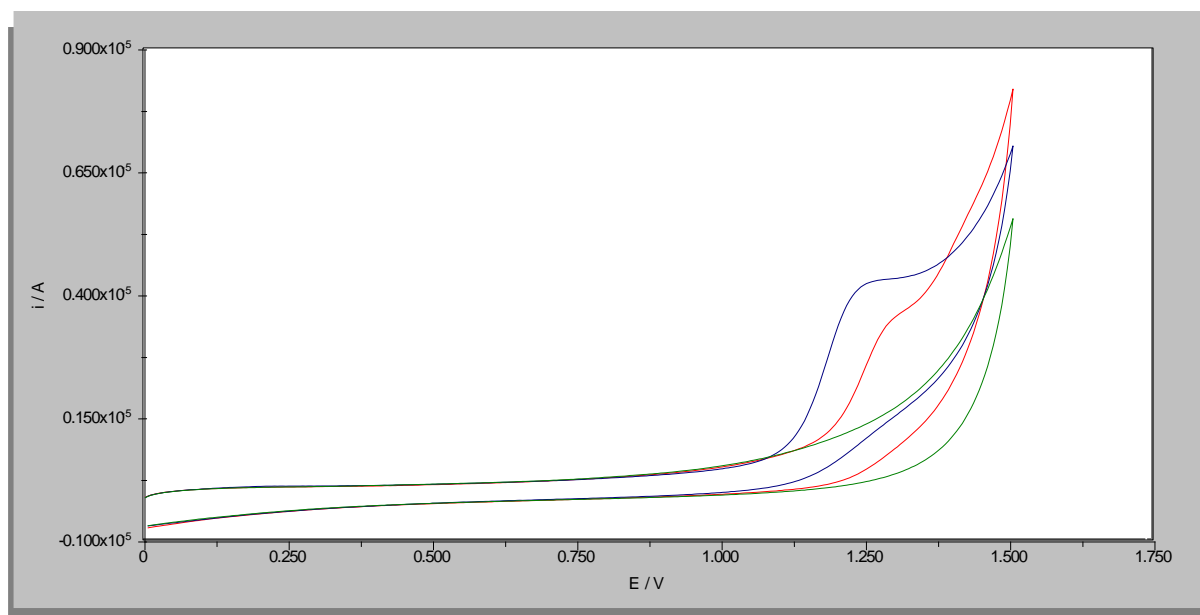
### 3.4. Priprema elektroda i uvjeti mjerenja

Nemodificirana elektroda od staklastog ugljika se prije svakog mjerenja polirala na krpici s prahom aluminijevog oksida ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), zatim se stavila u ultrazvučnu kupelj na 30 sekundi kako na njenoj površini ne bi zaostale čestice aluminijevog oksida te se onda isprala deioniziranom vodom i potom osušila. Isti postupak je učinjen i kod modifikacije elektrode od staklastog ugljika te je nakon sušenja elektrode na njenu površinu nanoseno 5  $\mu\text{L}$  suspenzije nanomaterijala koja je prethodno homogenizirana u ultrazvučnoj kupelji 30 minuta. Takva modificirana elektroda se ostavi na sušenju i kad se potpuno osuši može se koristiti. Isti postupak je ponovljen za svaki od nanomaterijala. Pripremljena elektroda se zatim najprije uranja u otopinu Britton-Robinson pufera željenog pH ili 0,1 M otopinu sulfatne kiseline, ovisno što je osnovni elektrolit u tom slučaju, te se snimaju dva ciklička voltamograma kako bi se ustalilo očitovanje jakosti struje. Zatim se elektroda uranja u radne otopine ondansetrona, pantoprazola i paracetamola. Po završetku svake analize otopina uzoraka, elektrodu se opet uranja u otopinu Britton-Robinson pufera željenog pH ili 0,1 M otopinu sulfatne kiseline, ovisno što je osnovni elektrolit u tom slučaju, te se snimaju dva ciklička voltamograma kako bi se elektroda očistila od adsorbiranog analita i kako ne bi mogao utjecati na daljnje rezultate mjerenja. Nemodificiranu elektrodu od staklastog ugljika, za razliku od modificirane, potrebno je nakon svakog mjerenja polirati na krpici aluminijevog oksida, stavljati u ultrazvučnu kupelj na 30 sekundi i isprati deioniziranom vodom, dok modificiranu se polira tek kada se skida nanoseni sloj nanomaterijala. Nakon određenog broja mjerenja sloj nanomaterijala se skida mehanički, odnosno poliranjem na krpici s prahom aluminijevog oksida, stavljanjem u ultrazvučnu kupelj te ispiranjem deioniziranom vodom. Ciklički voltamogrami snimljeni su na nemodificiranoj staklastoj ugljikovoj elektrodi te modificiranoj staklastoj ugljikovoj elektrodi sa svim nanomaterijalima (grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama, višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama modificiranim s hidroksilnim skupinama, višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama modificiranim karboksilnim skupinama, višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama modificiranim s amino skupinama, smjesom grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica i grafen oksidom, smjesom grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica i grafen nanopločicama). Brzina promjene potencijala iznosila je 100 mV/s u rasponu potencijala od 0 do 1,5 V. Također na kraju su na modificiranoj staklastoj ugljikovoj elektrodi s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama u području potencijala od 0 do 1,5 V ispitane različite brzine promjene potencijala od 25 do 300 mV/s.

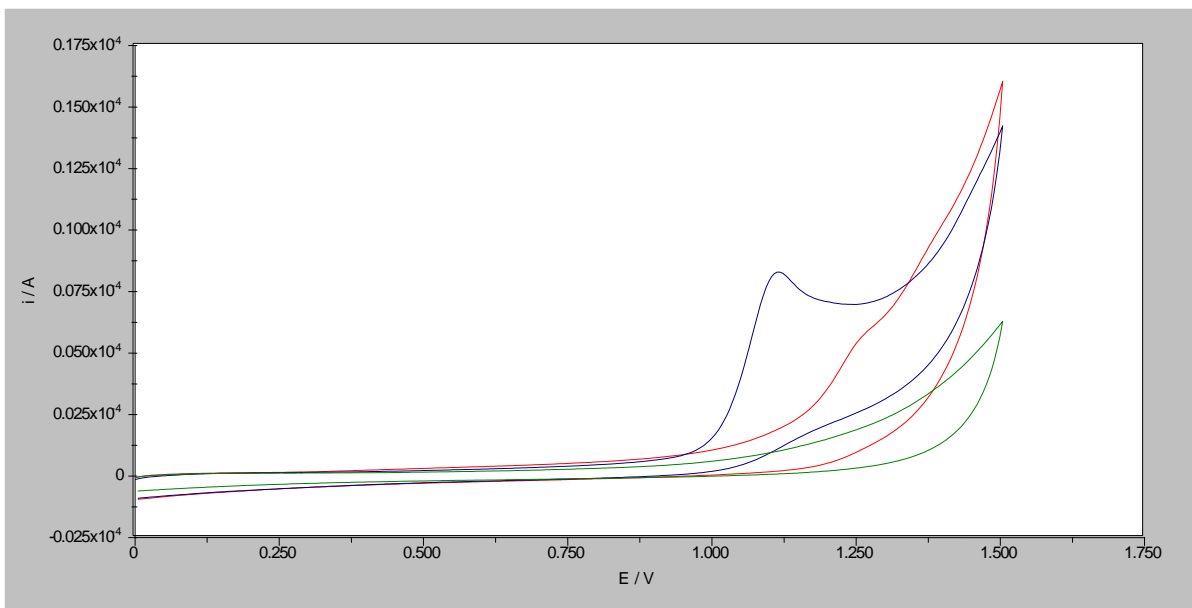
Pravokutni voltamogrami snimljeni su na nemodificiranoj staklastoj ugljikovoj elektrodi te modifciranoj staklastoj ugljikovoj elektrodi s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama u području potencijala od 0 do 1,5 V, frekvencije 75 Hz, amplitude pulsa 25 mV, promjene porasta potencijala 8 mV. Također na kraju pri optimizaciji parametara na modifciranoj staklastoj ugljikovoj elektrodi s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama u području potencijala od 0 do 1,5 V korištene su frekvencije od 15 do 75 Hz, amplitude pulsa od 5 do 50 mV te promjene porasta potencijala od 2 do 8 mV.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

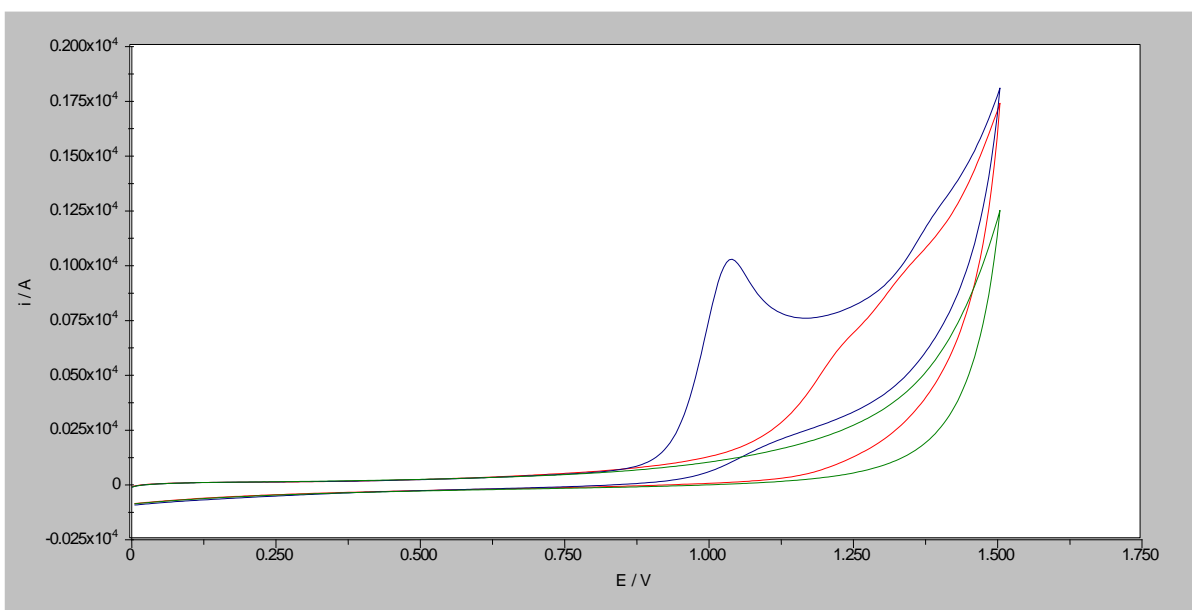
Prvi korak bio je utvrditi optimalan pH pri kojem bi oksidacijski strujni vrhovi ondansetrona i pantoprazola dali najveći odaziv i pri kojem bi pozadinska struja bila najmanja, a potencijali oksidacije oba lijeka dovoljno različiti kako bi voltametrijska metoda za njihovo simultano određivanje bila selektivna i osjetljiva. Cikličkom (CV) i pravokutnovalnom (SWV) voltametrijom upotrebom nemodificirane staklaste ugljikove elektrode (GCE), analizirane su zasebne otopine ondansetrona i pantoprazola u Britton-Robinsonovom puferu (osnovni elektrolit) u pH rasponu od 4 do 7. Pošto se pantoprazol raspada pri pH nižem od 4 (Khashaba i sur., 2018) zato nije ni ispitano ponašanje ondansetrona pri pH nižem od 4. Mjerenje se najprije vršilo u osnovnom elektrolitu željenog pH, a potom u radnim otopinama uzoraka oba lijeka. Dobiveni ciklički i pravokutnovalni voltamogrami prikazani su na slikama 11-20.



Slika 11. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona (crveno) i pantoprazola (plavo) koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 4 na GCE pri brzini promjene potencijala 100 mV/s u usporedbi s osnovnim elektrolitom BR puferom pH 4 (zeleno)

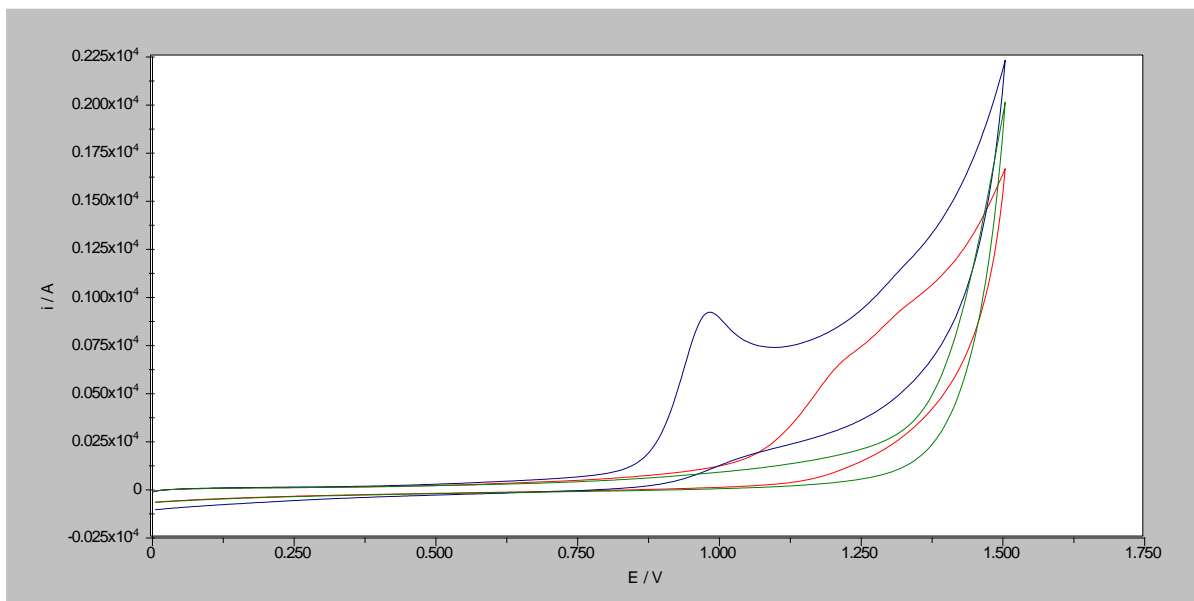


Slika 12. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona (crveno) i pantoprazola (plavo) koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 5 na GCE pri brzini promjene potencijala 100 mV/s u usporedbi s osnovnim elektrolitom BR puferom pH 4 (zeleno)

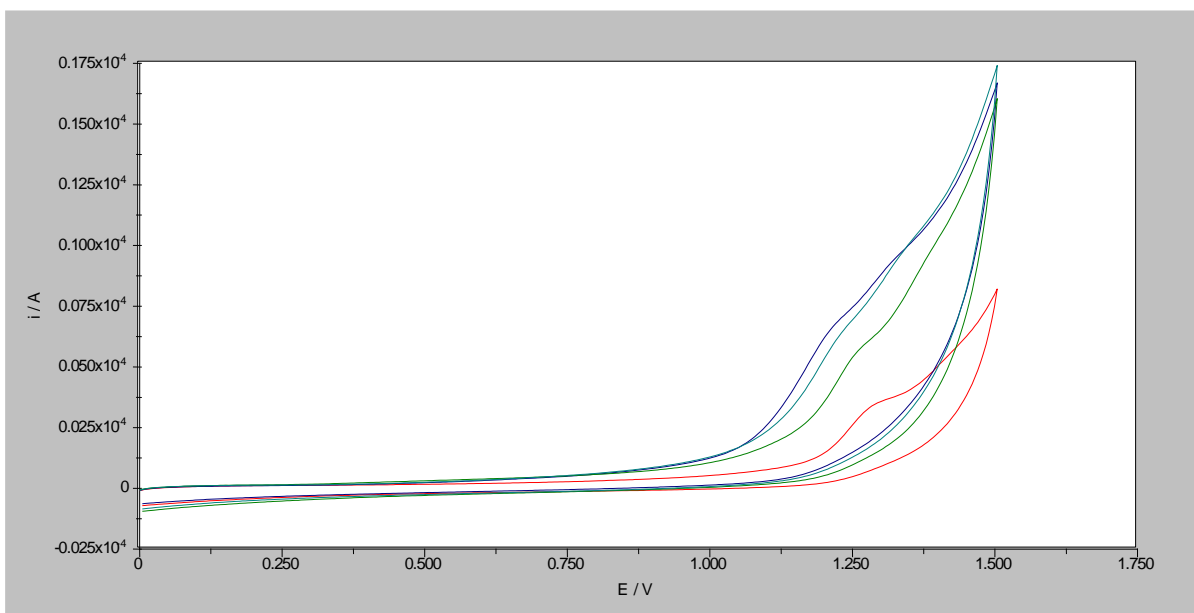


Slika 13. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona (crveno) i pantoprazola (plavo) koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 6 na GCE pri brzini promjene potencijala 100 mV/s u usporedbi s osnovnim elektrolitom BR puferom pH 4 (zeleno)

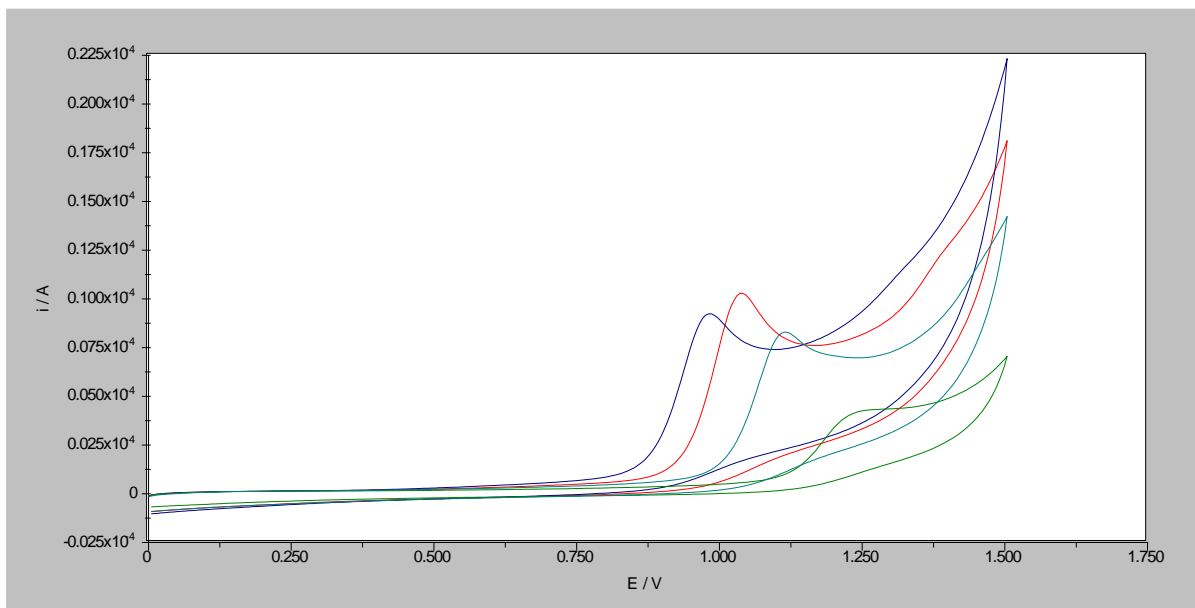




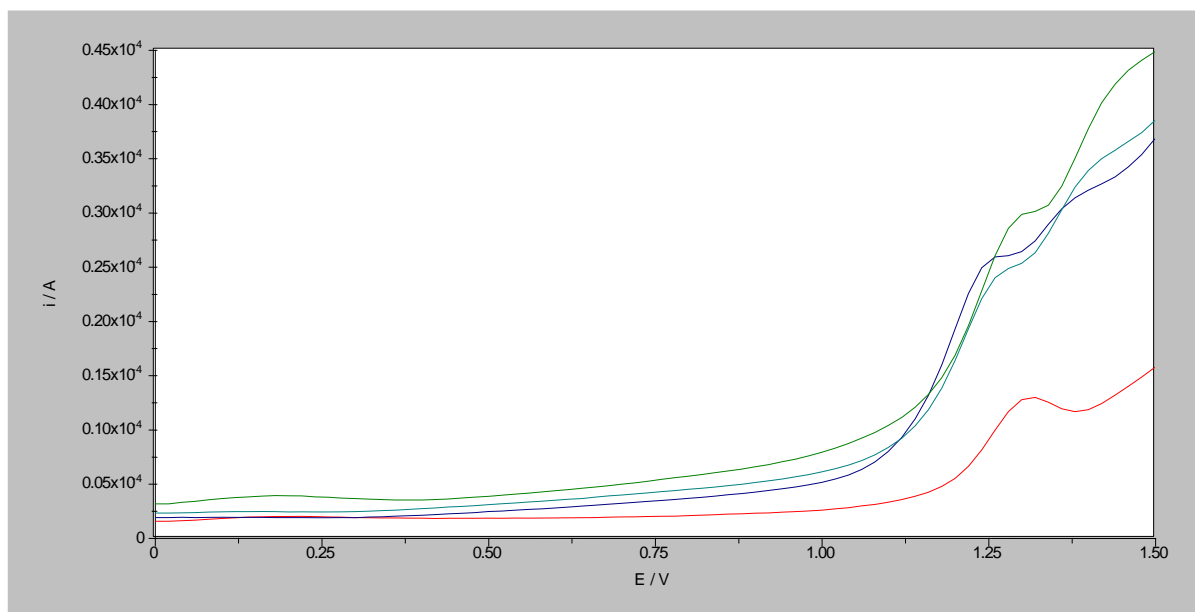
Slika 14. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona (crveno) i pantoprazola (plavo) koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 7 na GCE pri brzini promjene potencijala 100 mV/s u usporedbi s osnovnim elektrolitom BR puferom pH 4 (zeleno)



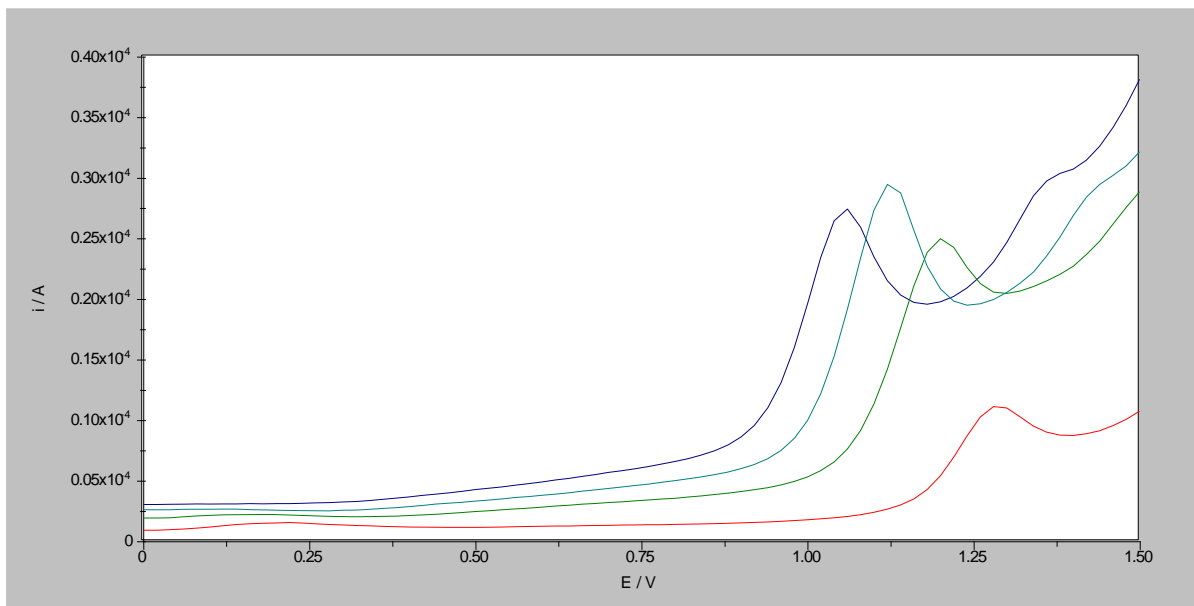
Slika 15. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 4 (crveno), pH 5 (zeleno), pH 6 (cijan) i pH 7 (plavo) na GCE pri brzini promjene potencijala 100 mV/s



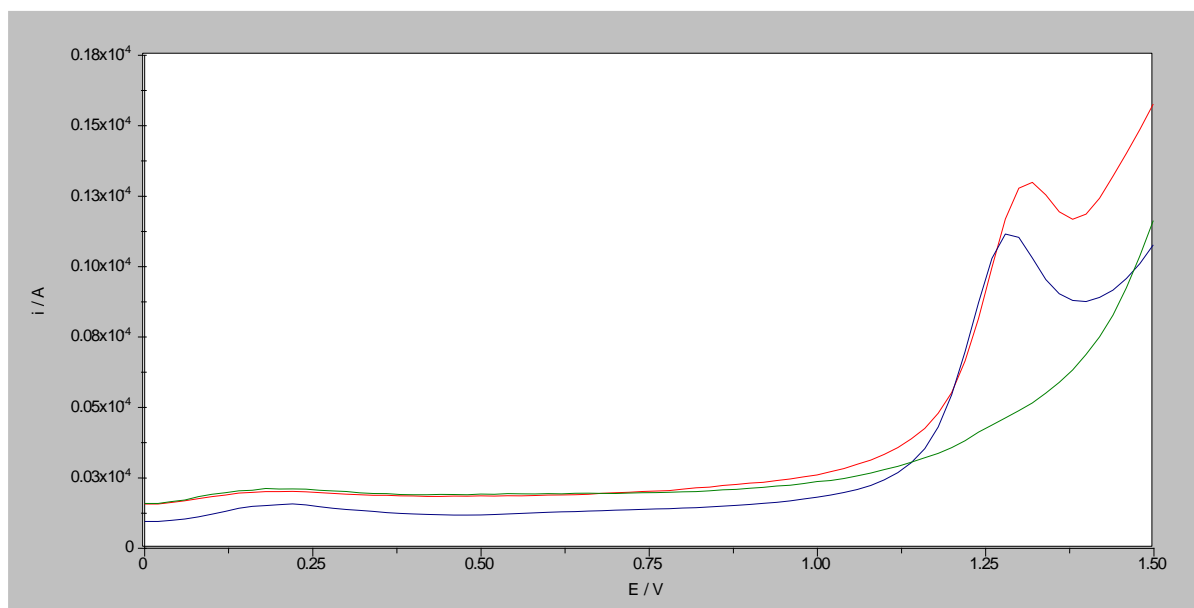
Slika 16. Ciklički voltamogrami otopine pantoprazola koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 4 (zeleno), pH 5 (cijan), pH 6 (crveno) i pH 7 (plavo) na GCE pri brzini promjene potencijala 100 mV/s



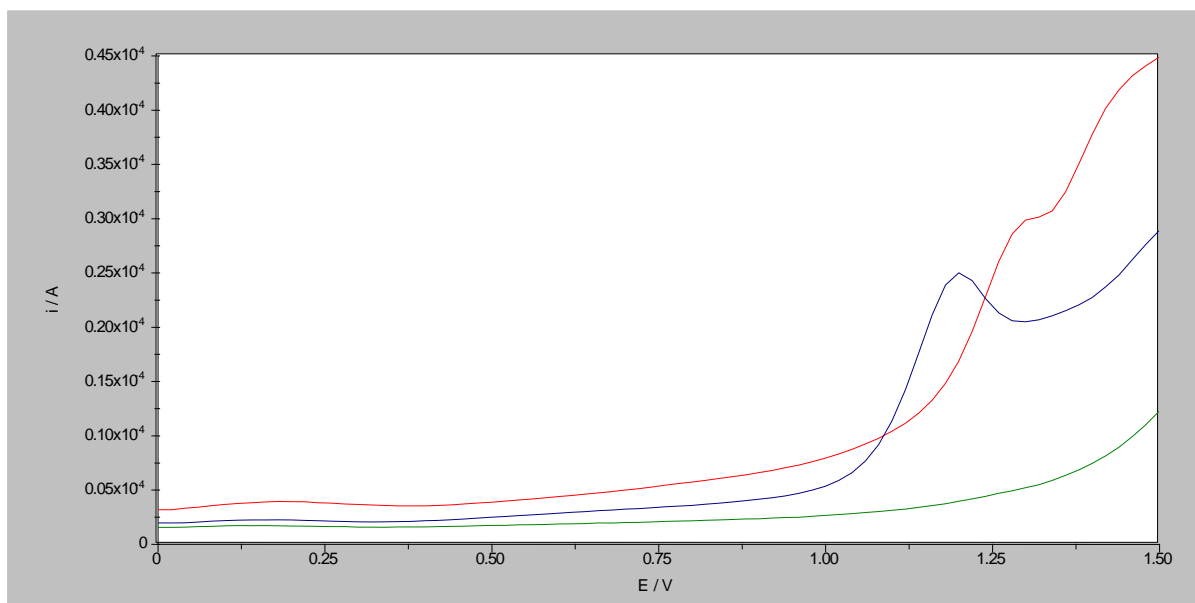
Slika 17. Pravokutnovalni voltamogrami otopine ondansetrona koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 4 (crveno), pH 5 (zeleno), pH 6 (cijan) i pH 7 (plavo) na GCE



Slika 18. Pravokutnovalni voltamogrami otopine pantoprazola koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 4 (crveno), pH 5 (zeleno), pH 6 (cijan) i pH 7 (plavo) na GCE



Slika 19. Pravokutnovalni voltamogrami otopine ondansetrona (crveno) i pantoprazola (plavo) koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 4 na GCE u usporedbi s osnovnim elektrolitom BR puferom pH 4 (zeleno)



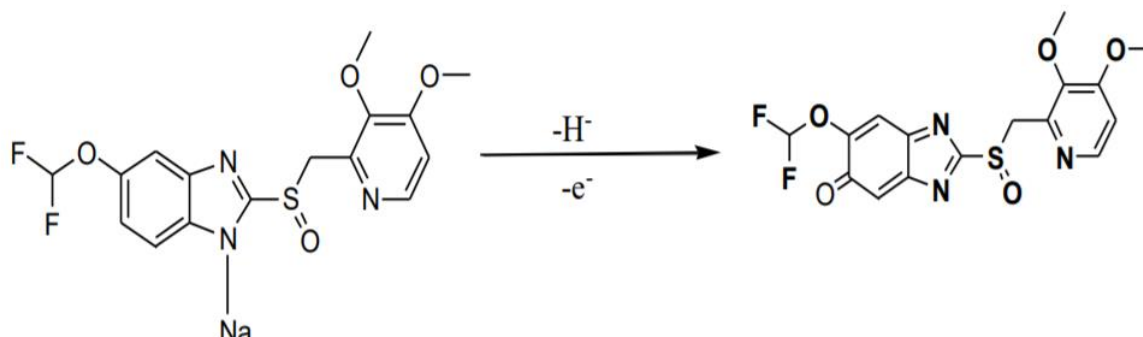
Slika 20. Pravokutnovalni voltamogrami ottopine ondansetrona (crveno) i pantoprazola (plavo) koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 5 na GCE u usporedbi s osnovnim elektrolitom BR puferom pH 4 (zeleno)

Prvo što se uočava na cikličkim voltamogramima ondansetrona i pantoprazola je da kod suprotnog smjera promjene potencijala, nema odgovarajućih redukcijskih vrhova. To nam ukazuje kako su to ireverzibilne reakcije oksidacije ondansetrona i pantoprazola.

Na cikličkim voltamogramima vidljivo je kako je oksidacijski vrh ondansetrona slabo definiran te nastaje na relativno visokom potencijalu 1,28 V zbog čega se preklapa sa signalom pozadinske struje osnovnog elektrolita. Također vidljivo je kako potencijal strujnog vrha ondansetrona ne ovisi o pH, već je ostao približno konstantan na 1,28 V.

S druge strane, oksidacijski vrh pantoprazola puno je bolje definiran. Potencijal oksidacije pantoprazola se povećanjem pH pomiče prema manje pozitivnim vrijednostima te je ovisnost  $E_p$  o pH u lineranom odnosu:  $E_p(\text{V}) = -0,065 \text{ pH} + 1,43$  u području pH 5-7 (nije uključen pH 4 jer pik nije dobro definiran zbog razgradnje pantoprazola). Pošto je nagib tog padajućeg pravca 65 mV/pH što je jako blizu Nernstove vrijednosti od 59 mV kod elektrokemijskih procesa koji uključuju isti broj elektrona i protona, očito je da pri oksidaciji pantoprazola sudjeluje isti broj elektrona i protona. Mehanizam ireverzibilne anodne oksidacije

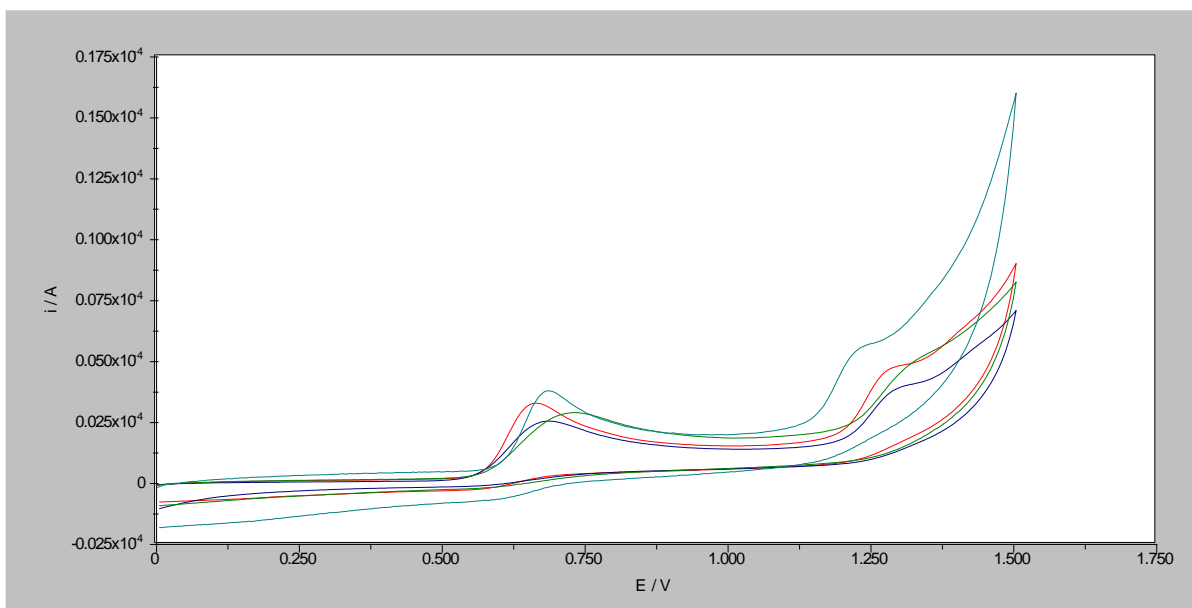
pantoprazola najvjerojatnije uključuje oksidaciju dušika na benzimidazolskom prstenu (Abeer i Mohamed, 2015) (Slika 21):



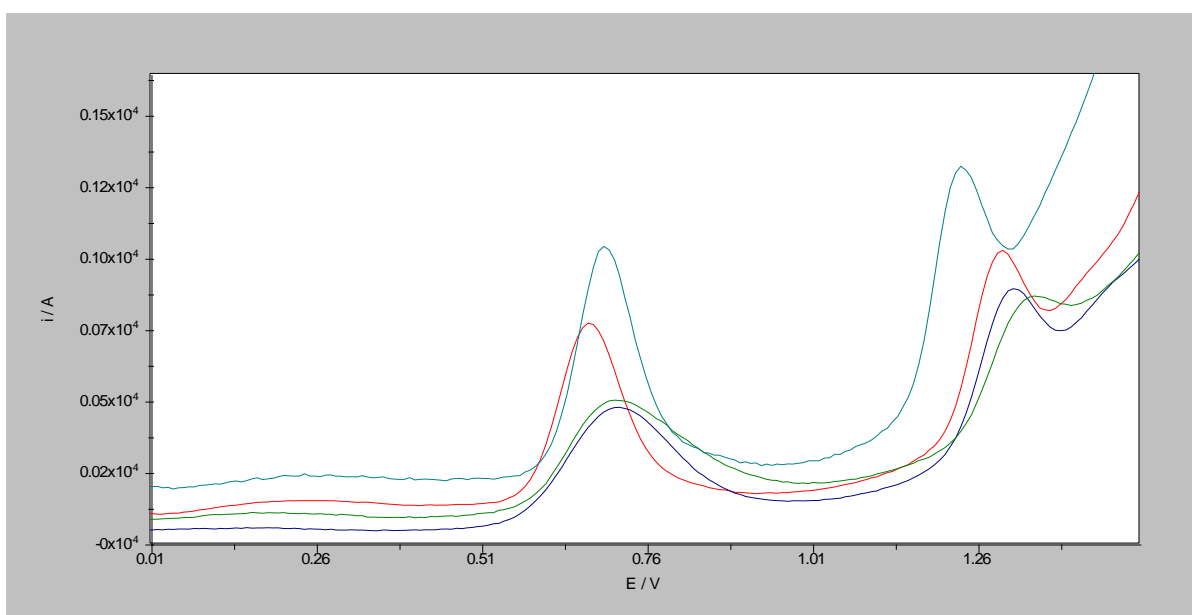
Slika 21. Mehanizam ireverzibilne anodne oksidacije pantoprazola (preuzeto iz Abeer i Mohamed, 2015)

Na pravokutnovalnim voltamogramima najbolje je vidljivo kako su strujni vrhovi ondansetrona i pantoprazola najbolje definirani kod pH 4 i pH 5 (Slika 17 i 18), no ipak razlika potencijala oksidacije njihovih strujnih vrhova iznosi oko 50 mV što je premalo za dobro razlučivanje voltametrijskih pikova ispitivanih lijekova te bi se oni preklapali kod istovremenog određivanja.

Zbog nemogućnosti istovremenog voltametrijskog mjerenja ondansetrona i pantoprazola, ispitana su elektroanalitička svojstva ondansetrona i paracetamola. Najprije je trebalo utvrditi optimalan pH pri kojem oksidacijski pikovi ondansetrona i paracetamola daju najveći odaziv i pri kojem je pozadinska struja minimalizirana. Cikličkom (CV) i pravokutnovalnom (SWV) voltametrijom upotrebom nemodificirane staklaste ugljikove elektrode (GCE), analizirana je otopina ondansetrona i paracetamola u Britton-Robinsonovom puferu (osnovni elektrolit) u pH rasponu od 2 do 4 te u 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> budući da je prethodnim mjerenjima utvrđeno da je oksidacijski vrh ondansetrona bolje definiran u kiseljoj otopini osnovnog elektrolita. Dobiveni ciklički i pravokutnovalni voltamogrami prikazani su na slikama 22 i 23.



Slika 22. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 2 (crveno), pH 3 (zeleno), pH 4 (plavo) i 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (tirkizno) na GCE pri brzini promjene potencijala 100 mV/s

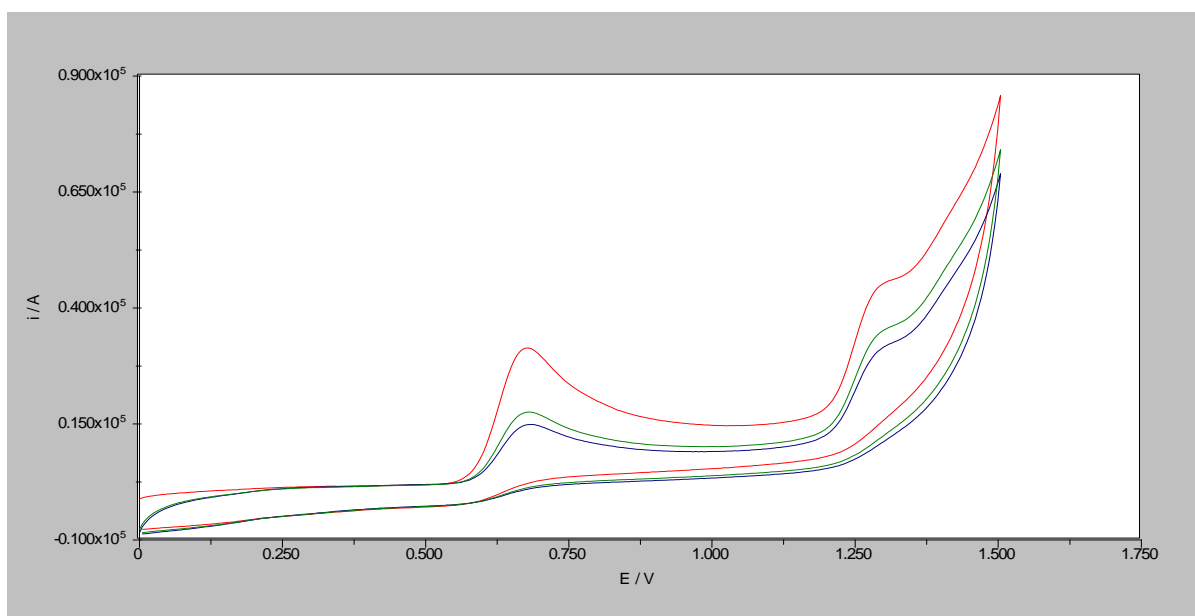


Slika 23. Pravokutnovalni voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 2 (crveno), pH 3 (zeleno), pH 4 (plavo) i 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (tirkizno) na GCE

Prvo što uočavamo na cikličkim voltamogramima ondansetrona i paracetamola je da kod suprotnog smjera promjene potencijala, nema odgovarajućih redukcijskih vrhova. To nam ukazuje kako su to ireverzibilne reakcije oksidacije ondansetrona i paracetamola.

Na slici 23. iz pravokutnovalnog voltamograma je vidljivo kako su strujni vrhovi ondansetrona i paracetamola najviši i najbolje definirani pri 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Dok na slici 22. iz cikličkog voltamograma je vidljivo kako su strujni vrhovi ondansetrona i paracetamola najviši i najbolje definirani pri pH 2 i 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Stoga za daljnja mjerenja kao osnovni elektroliti primjenjivani su Britton-Robinsonovom pufer pri pH 2 i 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Zatim su napravljena 3 uzastopna snimanja ciklička voltamograma s razmakom od 30 sekundi između mjerenja, u otopini ondansetrona i paracetamola u Britton-Robinsonovom puferu pri pH 2 na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika. Voltamogrami su prikazani na slici 24.

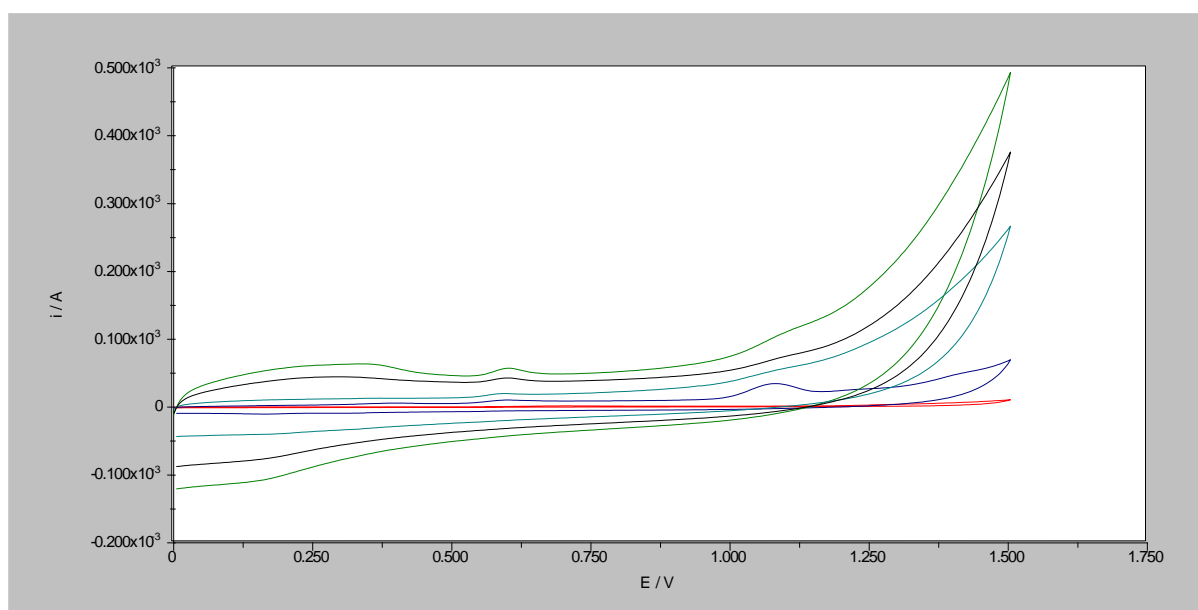


Slika 24. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $1 \times 10^{-4}$  M u BR puferu pH 2 na GCE. Prvi ciklus (crveno), drugi ciklus (zeleno), treći ciklus (plavo)

Strujni vrhovi ondansetrona i paracetamola se smanjuju uzastopnim snimanjem, što dovodi do zaključka kako se događaju promjene na površini elektrode tj. tijekom mjerenja se lijekovi adsorbiraju na površinu elektrode. Zbog toga je potrebno nakon svakog mjerenja polirati površinu elektrode kako bi se osigurala reproducibilnost.

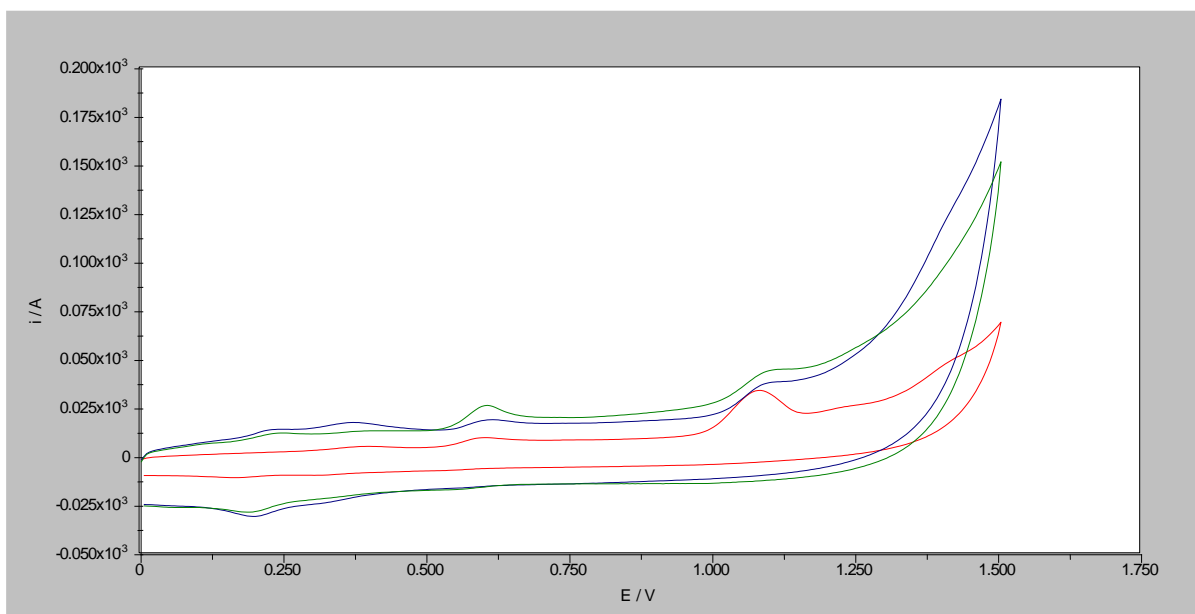
Radi poboljšanja osjetljivosti i reproducibilnosti metode, nastavila se ispitivati modifikacija površine elektrode s različitim nanomaterijalima: višeslojne ugljikove nanocjevčice

modificirane hidroksilnom skupinom, karboksilnom skupinom, amino skupinom, grafitizirane višeslojne ugljikove nanocjevčice te smjesa grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica i grafen oksidom (u omjeru 1:1) te grafen nanopločica (u omjeru 1:1). Svi nanomaterijali izrađeni su u obliku suspenzija u 0,3 % etanolnoj otopini Nafiona u koncentraciji 1 mg/mL te zatim nanoseni na nemođificiranu elektrodu od staklastog ugljika. Zatim su snimljeni ciklički voltamogrami na nemođificiranoj i mođificiranoj elektrodi od staklastog ugljika različitim nanomaterijalima, u otopini ondansetrone i paracetamola u Britton-Robinsonovom puferu pri pH 2 i 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, a prikazani su na Slikama 25-27.

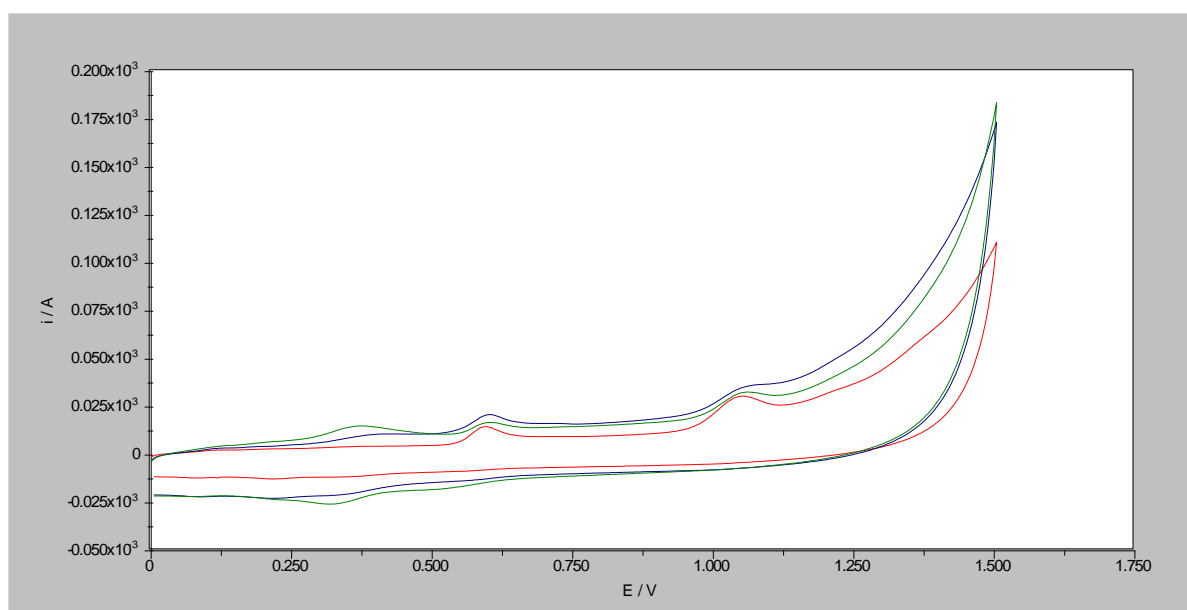


Slika 25. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrone i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 2 na nemođificiranoj GCE (crveno) i GCE čija je površina mođificirana MWCNT/NH<sub>2</sub> (cijan), MWCNT/grafit (plavo), MWCNT/OH (zeleno) i MWCNT/COOH (crno) ( $c=1$  mg/mL) u 0,3 %-tnoj otopini Nafiona



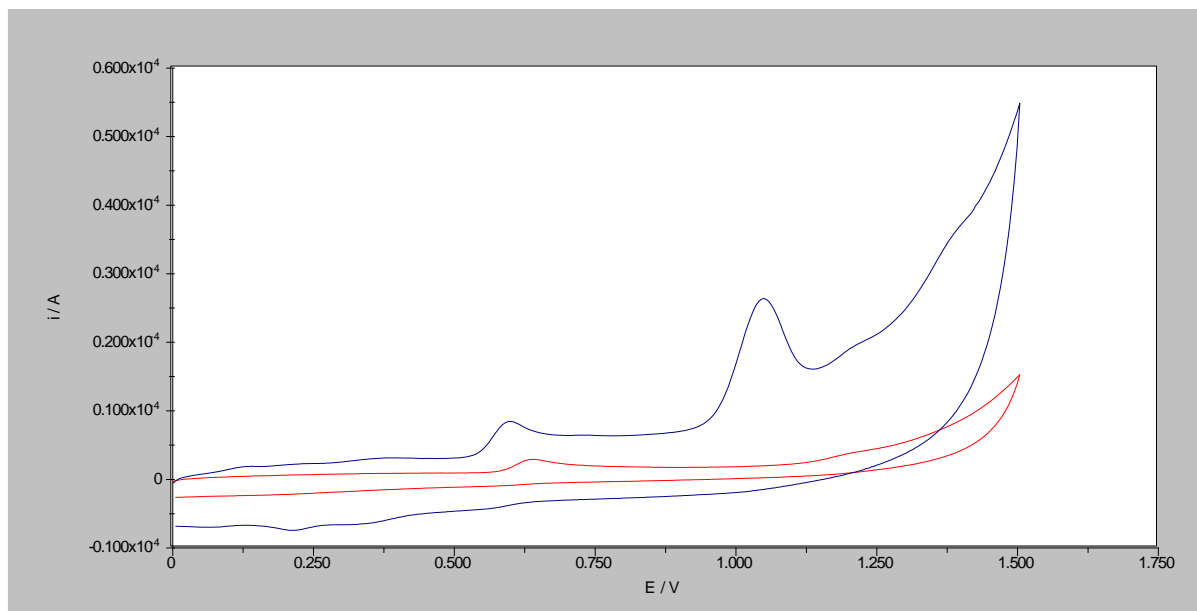


Slika 26. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u BR puferu pH 2 na GCE čija je površina modificirana MWCNT/grafit (crveno), MWCNT/grafit i grafen oksid (1:1) (zeleno) te MWCNT/grafit i grafen nanopločice (1:1) (plavo) ( $c=1$  mg/mL) u 0,3 %-tnoj otopini Nafiona



Slika 27. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u 0,1 M  $H_2SO_4$  na GCE čija je površina modificirana MWCNT/grafit (crveno), MWCNT/grafit i grafen oksid (1:1) (plavo) te MWCNT/grafit i grafen nanopločice (1:1) (zeleno) ( $c=1$  mg/mL) u 0,3 %-tnoj otopini Nafiona

Najprije je vidljivo kako su na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama (MWCNT/grafit), oksidacijski vrhovi ondansetrona i paracetamola najbolje definirani. To je zbog toga što su višeslojne ugljikove nanocjevčice modificirane grafitom hidrofobnije od ostalih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica, jer imaju manje površinskih funkcionalnih grupa s kisikom (hidroksilna i karboksilna skupina). Tako grafitizirane višeslojne ugljikove nanocjevčice (MWCNT/grafit) jako privlače lijekove preko hidrofobnih van der Waalsovih sila i  $\pi$ - $\pi$  aromatskih interakcija (Liu i sur., 2019). Zatim vidljivo je kako su oksidacijski vrhovi ondansetrona i paracetamola također bolje definirani i veće su vršne jakosti struje kada je osnovni elektrolit 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, nego Britton-Robinsonov pufer pri pH 2. Stoga je za daljnja snimanja izabrana 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kao osnovni elektrolit.

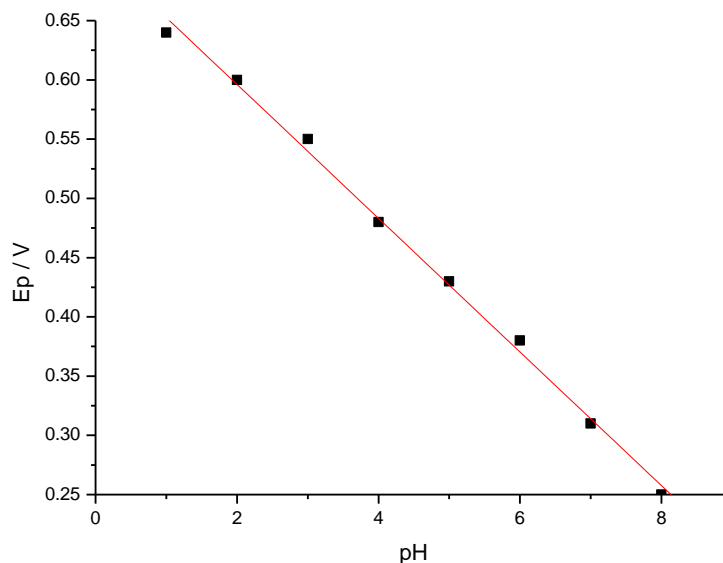


Slika 28. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na nemodificiranoj GCE (crveno) i GCE čija je površina modificirana MWCNT/grafit (plavo):  $E_p(\text{paracetamol})=0.6$  V i  $i_p(\text{paracetamol})=4.12$   $\mu$ A,  $E_p(\text{ondansetron})=1.04$  V i  $i_p(\text{ondansetron})=14.2$   $\mu$ A

Na slici 28 vidi se da su vršne struje oksidacijskih pikova ondansetrona i paracetamola značajno više na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama (MWCNT/grafit) te bi razvijena metoda na modificiranoj elektrodi bila značajno osjetljivija, nego metoda s nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika. Također na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama (MWCNT/grafit) vrijednosti potencijala oksidacije ondansetrona

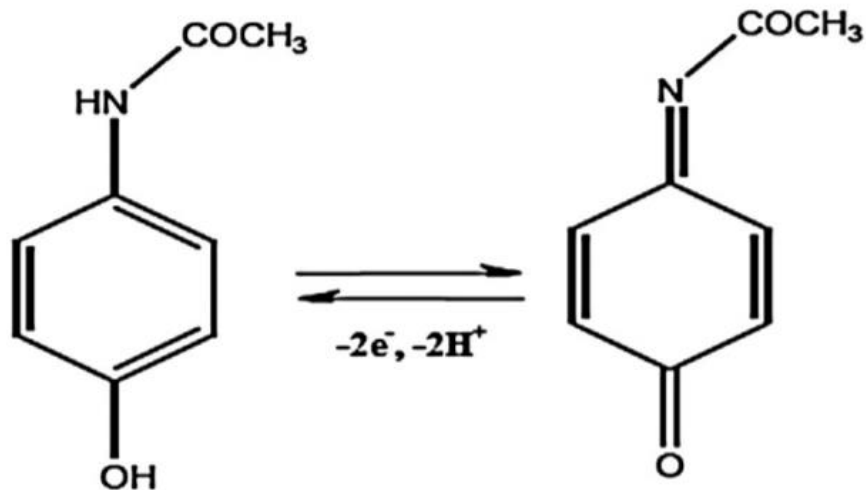
i paracetamola su pomaknute prema manje pozitivnim vrijednostima, u odnosu na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika. Taj pomak vrijednosti potencijala kod ondansetrona iznosi 240 mV u smjeru manje pozitivnih vrijednosti što je važno jer se time oksidacija ondansetrona pomaknula i više se ne preklapa s pozadinskom strujom osnovnog elektrolita. Ova poboljšanja metode su omogućena prisutnošću grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica na površini elektrode od staklastog ugljika čime se povećala ukupna površina elektrode i ubrzan je prijenos elektrona između elektrode i analita. Važan je i doprinos Nafiona koji pretkoncentrirava analit preko elektrostatskih interakcija te tako isto povećava osjetljivost metode. Naime Nafion je kationski izmjenjivač koji ima negativno nabijene sulfonske skupine koje su zadužene za elektrostatske interakcije s pozitivno nabijenim ondansetronom jer on je slaba baza koja je u kiselom mediju protonirana. Upravo zbog tih elektrostatskih interakcija, vršna jakost struje ondansetrona veća je od vršne struje paracetamola za 10,08  $\mu\text{A}$ . Također, metoda s modificiranom elektrodom od staklastog ugljika s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocjevčicama (MWCNT/grafit) ukazuje na dobru selektivnost, s obzirom da razlika potencijala oksidacije paracetamola i ondansetrona iznosi 440 mV.

Idući korak bio je ispitati sudjeluje li prijenos protona u oksidaciji paracetamola i ondansetrona. To se odredilo snimanjem cikličkih voltamograma paracetamola i ondansetrona u 0.1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i Britton-Robinsonovom puferu pri rasponu pH 2-8, a zatim se prikazala ovisnost potencijala oksidacije o pH vrijednosti osnovnog elektrolita na slikama 29 i 31.

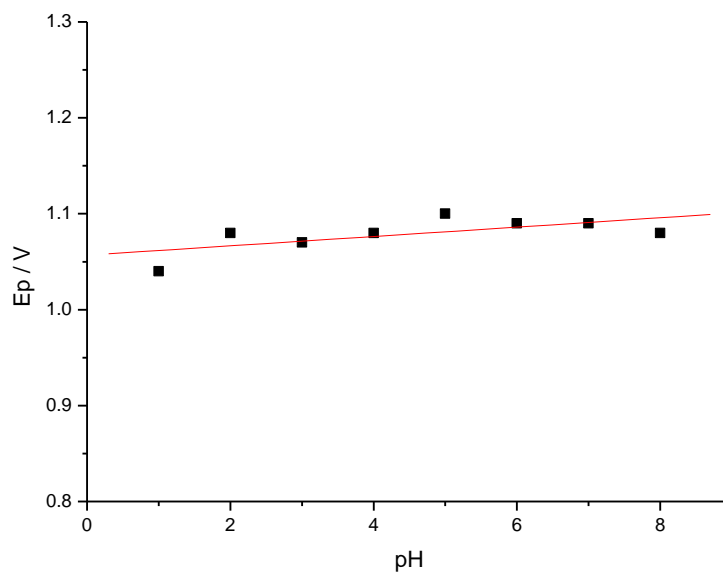


Slika 29. Ovisnost vršnog potencijala oksidacije paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M dobiven cikličkom voltametrijom na modificiranoj GCE o pH vrijednosti osnovnog elektrolita:  $E_p \text{ (V)} = -0.0564 \text{ pH} + 0.709$

Slika 29 prikazuje linearnu ovisnost vršnog potencijala oksidacije paracetamola o pH vrijednosti osnovnog elektrolita odnosno da se povećanjem pH vrijednosti osnovnog elektrolita vršni potencijal oksidacije paracetamola pomiče prema negativnijim vrijednostima. Pošto je nagib tog padajućeg pravca 56,4 mV/pH što je jako blizu Nernstove vrijednosti od 59 mV/pH kod elektrokemijskih procesa koji uključuju isti broj elektrona i protona, očito je da pri oksidaciji paracetamola sudjeluje isti broj elektrona i protona. Stoga predloženi mehanizam oksidacije paracetamola koji uključuje  $2 e^-$  i 2 protona ide preko N-acetil-p-kinonimina (Kutluay i Aslanoglu, 2013) kao što je prikazano na slici 30.



Slika 30. Predložen mehanizam oksidacije paracetamola (preuzeto iz Kutluay i Aslanoglu, 2013)

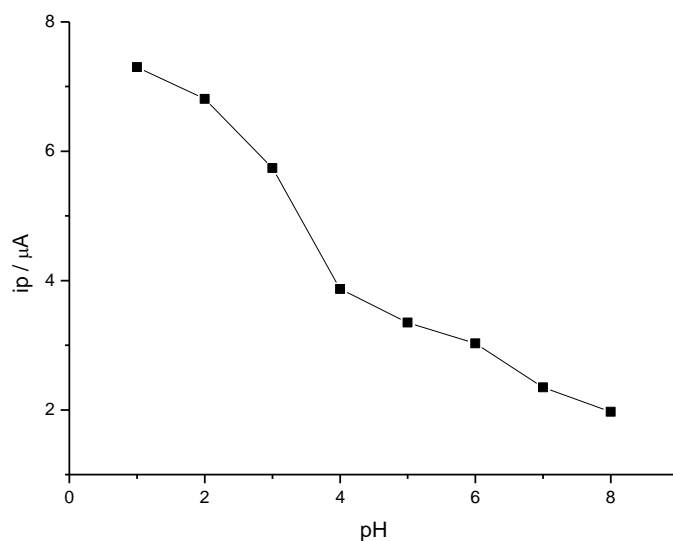


Slika 31. Ovisnost vršnog potencijala oksidacije ondansetrona koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M dobiven cikličkom voltametrijom na modificiranoj GCE o pH vrijednosti osnovnog elektrolita:  $E_p(\text{V}) = 0.005 \text{ pH} + 1.057$

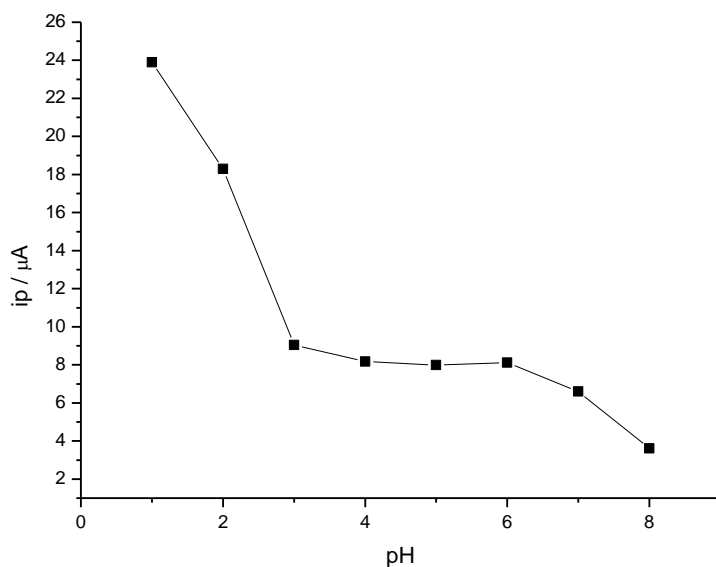
Slika 31 prikazuje kako je potencijal oksidacije ondansetrona neovisan o promjeni pH te tako protoni ne određuju brzinu ove redoks reakcije. Stoga predloženi mehanizam oksidacije

ondansetrona uključuje prijenos jednog  $e^-$  te pritom nastaje kationski radikal na dušikovom atomu u imidazolskom prstenu (Nigović i sur., 2014).

Također snimanjem cikličkih voltamograma paracetamola i ondansetrona u 0.1 M  $H_2SO_4$  i Britton-Robinsonovom puferu pri rasponu pH 2-8, prikazane su i ovisnosti vršne jakosti struje o pH vrijednosti osnovnog elektrolita na slikama 32 i 33.



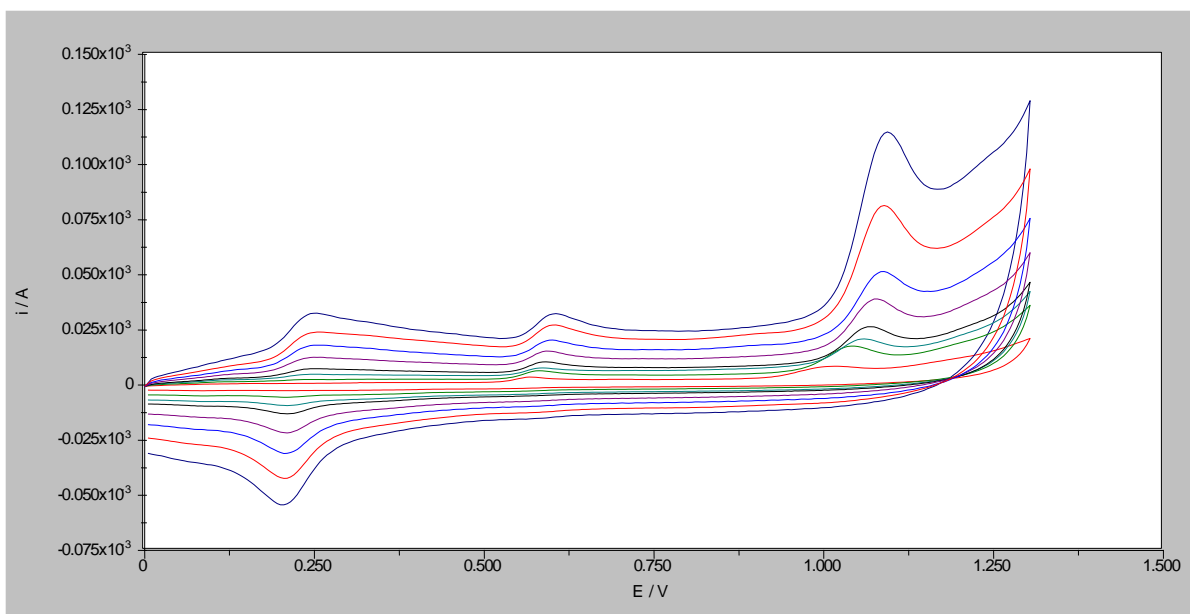
Slika 32. Ovisnost vršne jakosti struje paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M dobiven cikličkom voltametrijom o pH vrijednosti osnovnog elektrolita



Slika 33. Ovisnost vršne jakosti struje ondansetrona koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M dobiven cikličkom voltametrijom o pH vrijednosti osnovnog elektrolita

Na slikama 32 i 33 vidljivo je kako su vršne jakosti struje paracetamola i ondansetrona najveće pri najnižem pH, odnosno u 0,1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Na slici 29 krenuvši od najnižeg pH vršne jakosti struje paracetamola iznose oko  $7 \mu\text{A}$  i polagano se smanjuju povećanjem pH, a relativno nagli pad se događa pri pH 3 kada padnu na ispod  $4 \mu\text{A}$  i onda od pH 4 opet polagano se smanjuju. Na slici 30 krenuvši od najnižeg pH vršne jakosti struje ondansetrona su izrazito velike i iznose preko  $20 \mu\text{A}$ , no odmah se naglo smanjuju povećanjem pH sve do pH 3 kada padnu na ispod  $10 \mu\text{A}$  i krenu se polagano smanjivat. Ovaj izrazito veliki pad vršne jakosti struje ondansetrona za razliku od paracetamola, objašnjava se time što je ondansetron slaba baza koja je pri najnižim pH vrijednostima potpuno protonirana na dušikovom atomu u imidazolskom prstenu i ostvaruje elektrostatske interakcije s negativno nabijenim sulfonskim skupinama Nafiona na površini elektrode. Tako dolazi do pretkoncentriravanja ondansetrona na površinu modificirane elektrode i povećava se osjetljivost metode.

Na slici 34 prikazani su ciklički voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u 0,1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocijevčicama (MWCNT/grafit) pri različitim brzinama promjene potencijala pri čemu najmanju brzinu promjene potencijala ima najdonji voltamogram s trendom porasta brzine promjene potencijala prema višim voltamogramima.

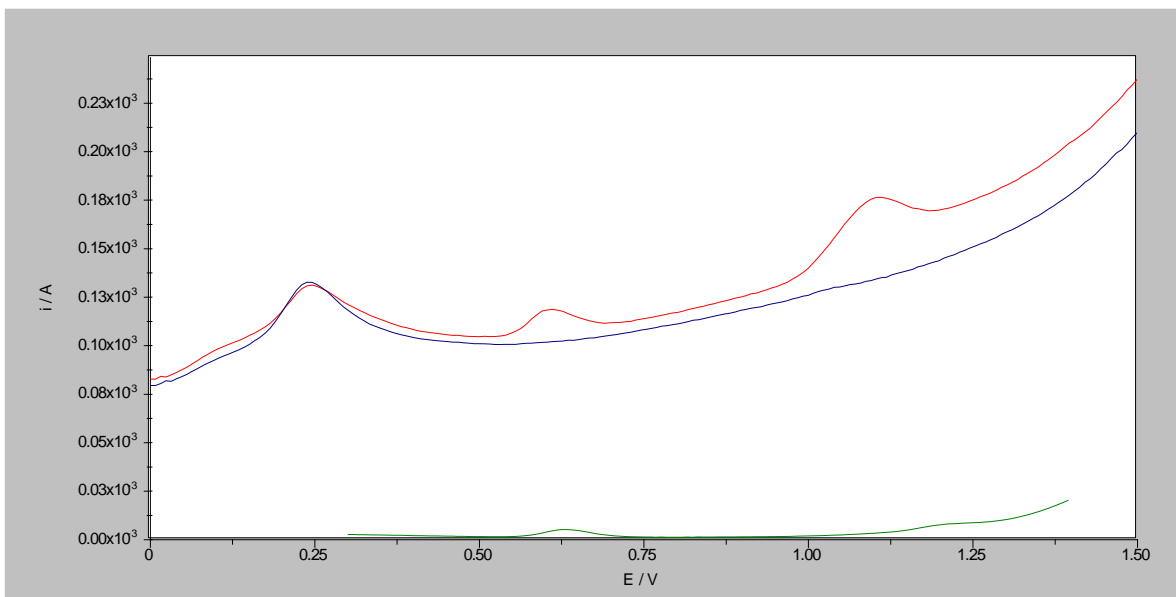


Slika 34. Ciklički voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u  $0,1$  M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  na GCE čija je površina modificirana MWCNT/grafit pri različitim brzinama promjene potencijala od 25 do 300 mV/s

Vidljivo je kako porastom brzine promjene potencijala, potencijali oksidacijskih vrhova ondansetrona i paracetamola se pomiču prema pozitivnijim vrijednostima, iz čega također zaključujemo da je oksidacija ondansetrona i paracetamola ireverzibilni proces. Također linearna ovisnost vršne jakosti struje o brzini promjene potencijala, ukazuje da su redoks reakcije ondansetrona i paracetamola na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocijevčicama (MWCNT/grafit) adsorpcijski kontrolirani procesi. Upravo zbog toga postoji mogućnost razvoja adsorptivne stripping metode za simultano analitičko određivanje oba lijeka.

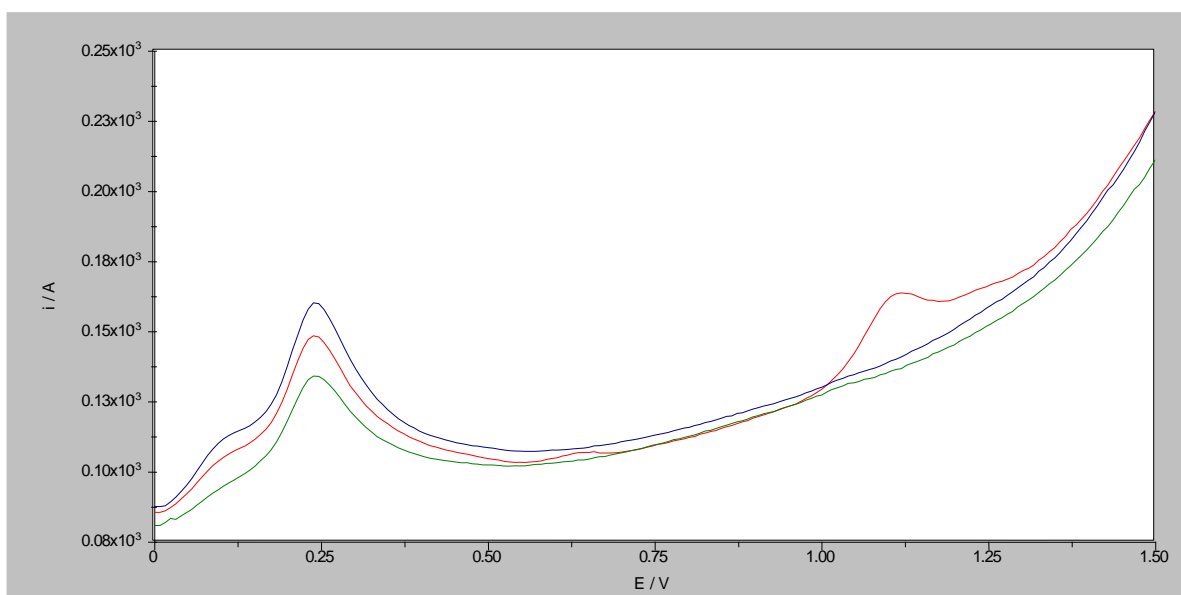
Zatim je upotrijebljena i druga vrsta voltametrije, pravokutnovalna voltametrija koja je osjetljivija tehnika od cikličke voltametrije. Na slici 35 snimljen je pravokutnovalni voltamogram otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u  $0,1$  M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocijevčicama (MWCNT/grafit). Za uvjete snimanja izabrana je kombinacija frekvencije 75 Hz, amplitude pulsa 25 mV i promjena porasta potencijala od 8 mV, za koju je pokazano da pri njoj ondansetron daje najbolji odziv (Nigović i sur., 2014).





Slika 35. Pravokutnovalni voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u 0,1 M  $H_2SO_4$  (crveno) i sam osnovni elektrolit (plavo) na GCE čija je površina modificirana MWCNT/grafit te na nemodificiranoj GCE (zeleno), pri uvjetima snimanja  $f=75$  Hz,  $E=25$  mV,  $dE=8$  mV

Vidljivo je kako je jakost struje tj. odaziv puno veći na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocijevčicama (MWCNT/grafit), nego na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika.

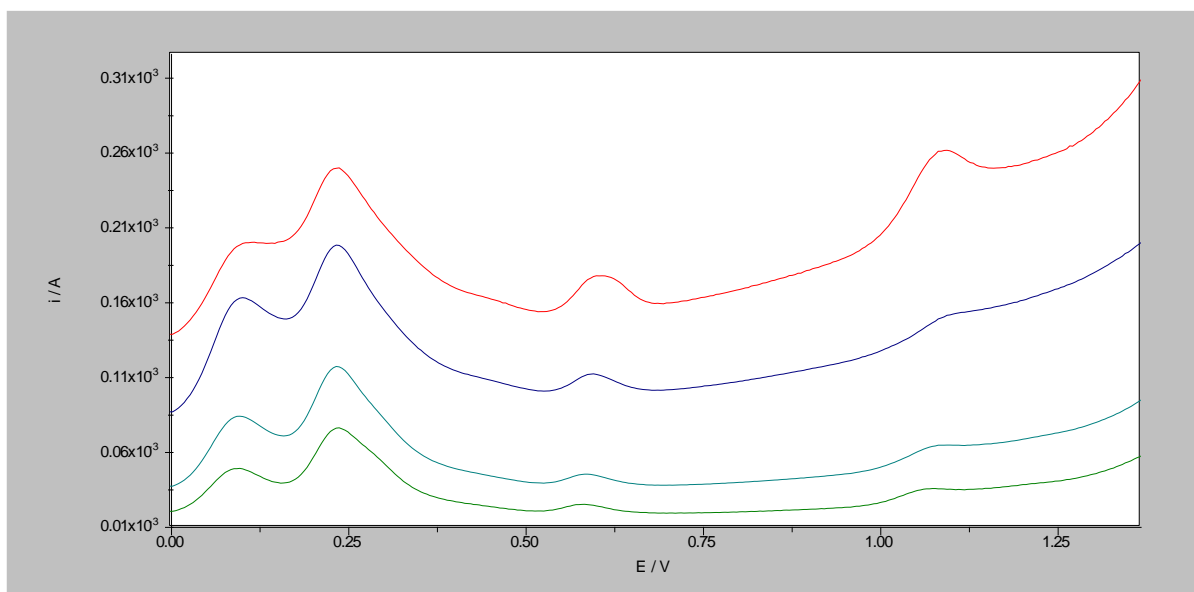


Slika 36. Pravokutnovalni voltamogrami čišćenja GCE čija je površina modificirana MWCNT/grafit u osnovnom elektrolitu 0,1 M  $H_2SO_4$ , nakon snimanja otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u 0,1 M  $H_2SO_4$ ; prvo snimanje (crveno), drugo snimanje

(plavo) i osnovni elektrolit 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> prije snimanja otopine ondansetrona i paracetamola (zeleno)

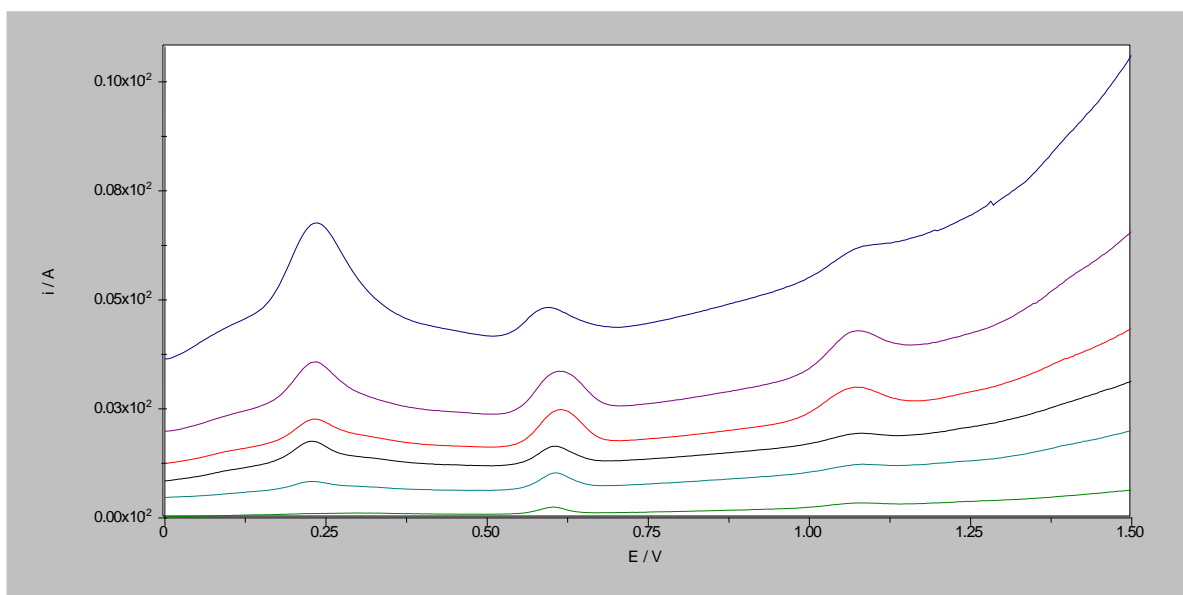
Na slici 36 prikazano je čišćenje elektrode od staklastog ugljika modificirane s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocijevčicama (MWCNT/grafit) s 2 uzastopna mjerenja u osnovnom elektrolitu nakon snimanja otopine ondansetrona i paracetamola. U prvom snimanju dobro je vidljiv pik ondansetrona, dok se pik paracetamola jedva primjećuje. To je zbog toga što je ondansetron protoniran u 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pa se jače adsorbira na modificiranu elektrodu zbog elektrostatskih interakcija s Nafionom, kao što je već objašnjeno. U drugom snimanju površina elektrode je regenerirana te se ne vide više pikovi ondansetrona i paracetamola. Time je potvrđena odlična reproducibilnost metode s elektrodom od staklastog ugljika modificiranom s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocijevčicama (MWCNT/grafit) jer je nakon snimanja analita dovoljno napraviti samo dva snimanja u osnovnom elektrolitu kako bi se površina elektrode regenerirala.

Na kraju je bilo potrebno odrediti optimalne parametre mjerenja pravokutnovalnom voltametrijom u slučaju simultanog određivanja ondansetrona i paracetamola na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocijevčicama (MWCNT/grafit). To uključuje pronalazak optimalne frekvencije, amplitude pulsa i brzine promjene potencijala što je prikazano na slikama 37, 38 i 39.

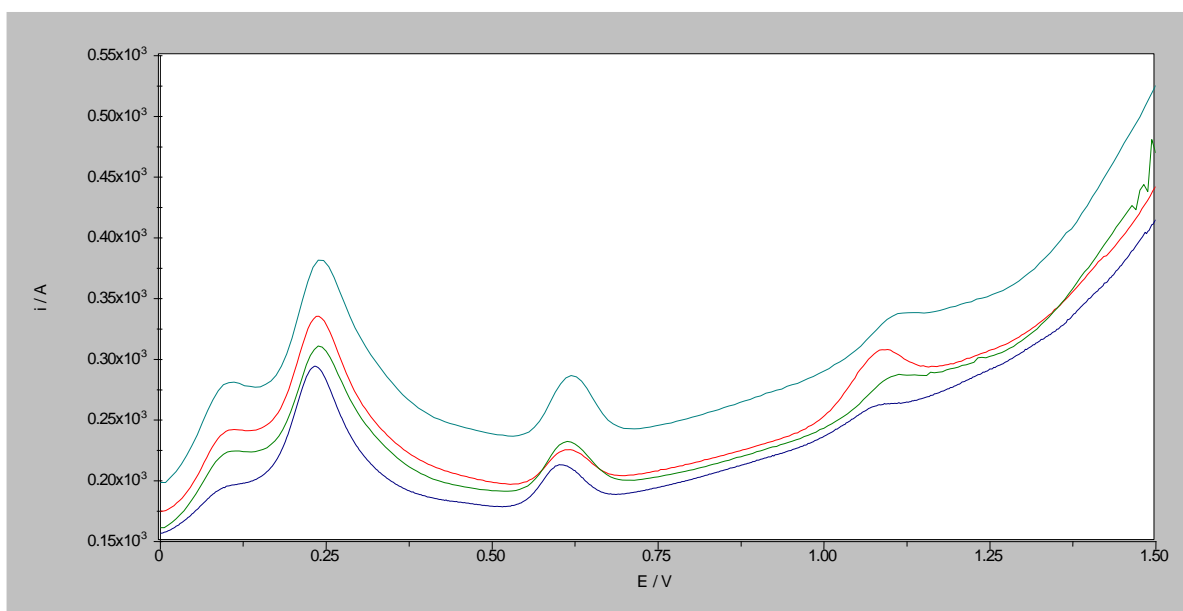


Slika 37. Pravokutnovalni voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na GCE modificiranoj MWCNT/NH<sub>2</sub> promjene porasta potencijala

4 mV, amplitude pulsa 20 mV i frekvencije 15 Hz (zeleno), 25 Hz (tirkizno), 50 Hz (plavo) i 75 Hz (crveno)



Slika 38. Pravokutnovalni voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M u 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na GCE modificiranoj MWCNT/NH<sub>2</sub> promjene porasta potencijala 4 mV, frekvencije 75 Hz i amplitude pulsa 5 mV (zeleno), 10 mV (cijan), 15 mV (crno), 20 mV (crveno), 30 mV (ljubičasto) i 50 mV (plavo)



Slika 39. Pravokutnovalni voltamogrami otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na GCE modificiranoj MWCNT/NH<sub>2</sub> frekvencije 75 Hz, amplitude

pulsa 20 mV i promjene porasta potencijala 2 mV (plavo), 4 mV (crveno), 6 mV (zeleno) i 8 mV (cijan)

Na dobivenim pravokutnovalnim voltamogramima otopine ondansetrona i paracetamola koncentracije  $5 \times 10^{-5}$  M 0,1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s grafitiziranim višeslojnim ugljikovim nanocijevčicama (MWCNT/grafit), vidljivo je kako optimalni parametri uključuju frekvenciju od 75 Hz, amplitudu pulsa 20 mV i promjenu porasta potencijala 4 mV. Zato postoji mogućnost simultanog određivanja paracetamola i ondansetrona pravokutnovalnom voltametrijom pri tim uvjetima.

## 5. ZAKLJUČCI

Ispitivanjem oksidacije ondansetrona i pantoprazola cikličkom i pravokutnovalnom voltametrijom na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika, ustanovljeno je kako ta dva lijeka nije moguće simultano određivati na navedenoj elektrodi jer je razlika potencijala njihovih strujnih vrhova oko 50 mV što je nedovoljno za njihovo razlučivanje kod istovremenog određivanja. Stoga nije dalje ispitivana modifikacija površine elektrode od staklastog ugljika za analizu ta dva lijeka. Iz jednadžbe ovisnosti potencijala oksidacijskog vrha pantoprazola o promjeni pH zaključeno je da protoni oslobođeni kod oksidacije pantoprazola određuju brzinu reakcije i da sudjeluje isti broj elektrona i protona.

Prelaskom na ispitivanje oksidacije ondansetrona i paracetamola cikličkom i pravokutnovalnom voltametrijom na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika, pokazano je kako je 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> najbolji izbor kao osnovni elektrolit kod njihovog simultanog određivanja. Utjecaj modifikacije površine elektrode od staklastog ugljika raznim nanomaterijalima na oksidaciju smjese ondansetrona i paracetamola ispitan je korištenjem višeslojnih ugljikovih nanocjevčica modificiranih hidroksilnom skupinom, karboksilnom skupinom, amino skupinom, grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica te smjese grafitiziranih višeslojnih ugljikovih nanocjevčica i grafen oksidom (u omjeru 1:1) te grafen nanopločica (u omjeru 1:1) u koncentraciji 1 mg/mL u 0,3 % otopini Nafiona. Utvrđeno je kako su upravo grafitizirane višeslojne ugljikove nanocjevčice idealan nanomaterijal za razvoj nove metode. Iz jednadžbe ovisnosti potencijala oksidacijskog vrha o promjeni pH, zaključeno je da kod oksidacije ondansetrona prijenos protona ne određuje brzinu reakcije, dok kod oksidacije paracetamola određuju i sudjeluje isti broj elektrona i protona. Pokazano je da porastom brzine promjene potencijala, potencijali strujnih vrhova ondansetrona i paracetamola se pomiču prema pozitivnijim vrijednostima. Ta činjenica, kao i to da ciklički voltamogrami ondansetrona i paracetamola nemaju povratne pikove redukcije, dokazuje kako su pri zadanim uvjetima oksidacije ondansetrona i paracetamola ireverzibilne redoks reakcije. Kod simultane analize ondansetrona i paracetamola pravokutnovalnom voltametrijom na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s grafitiziranim nanocjevčicama, utvrđeni su optimalni parametri: frekvencija 75 Hz, promjena porasta potencijala 4 mV i amplituda pulsa 20 mV. Na temelju svega ovoga zaključujemo kako postoji mogućnost razvoja selektivne i osjetljive voltametrijske metode za simultano određivanje ondansetrona i paracetamola.

## 6. LITERATURA

1. Babei A, Afrasiabi M, Mirzakhani S, Taheri AR. A Sensitive Determination of Acetaminophen in Pharmaceutical Preparations and Biological Samples using Multi-Walled Carbon Nanotube Modified Glassy Carbon Electrode. *J Braz Chem Soc*, 2011, 22, 344-351.
2. Cernat A, Tertis M, Sandulescu R, Bedioui F, Cristea A, Cristea C. Electrochemical sensors based on carbon nanomaterials for acetaminophen detection: A review. *Anal Chim Acta*, 2015, 886, 16-28.
3. Chiew AL, Glud C, Brok J, Buckley NA. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database Syst Rev*, 2018, 2, CD003328.
4. Controloc 20 mg želučanootporne tablete, [http://halmed.hr//upl/lijekovi/SPC/SPC\\_UP-I-530-09-15-02-136.pdf](http://halmed.hr//upl/lijekovi/SPC/SPC_UP-I-530-09-15-02-136.pdf), pristupljeno 9.6.2020.
5. Elsieid AMH, Gehad GM. Sensitive Electrochemical Determination of Pantoprazole Sodium in Pure Form Pharmaceutical Formulations and Biological Fluid at Glassy Carbon Electrode Using Differential Pulses and Square wave Techniques. *Int J Electrochem Sci*, 2015, 10, 7147-7158.
6. Engin C, Yilmaz S, Saglikoglu G, Yagmur S, Sadikoglu M. Electroanalytical Investigation of Paracetamol on Glassy Carbon Electrode by Voltammetry. *Int J Electrochem Sci*, 2015, 10, 1916-1925.
7. Erk N. Differential pulse anodic voltammetric determination of pantoprazole in pharmaceutical dosage forms and human plasma using glassy carbon electrode. *Anal Biochem*, 2003, 323, 48-53.
8. Espinosa Bosch M, Ruiz Sánchez AJ, Sánchez Rojas F, Bosch Ojeda C. Determination of paracetamol: historical evolution. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 42, 291-321.
9. Fock KM, Ang TL, Bee LC, Lee EJ. Proton pump inhibitors: do differences in pharmacokinetics translate into differences in clinical outcomes?. *Clin Pharmacokinet*, 2008, 47, 1-6.
10. Griddine A, Bush JS. Ondansetron. *StatPearls*, 2020.
11. Hadi M, Ehsani A. Anodized Edge-plane Pyrolytic Graphite for Electroanalysis of Pantoprazole in Tablet Dosage Forms and Human Urine Samples. *S Afr J Chem*, 2016, 69, 79-87.
12. Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 1991, 354.
13. Jenkins GM, Kawamura K. Structure of Glassy Carbon. *Nature*, 1971, 231, 175-176.



14. Khashaba PY, Ali H, El-Wakil M. Square Wave Stripping Voltammetric Determination of Pantoprazole in Rabbit Plasma Using Surfactant-Based Pencil Graphite Electrode. *J Anal Chem*, 2019, 74, 609-616.
15. Khashaba PY, Ali HRH, El-wakil MM. Development of a novel and cost-effective redox sensor for voltammetric determination of pantoprazole sodium during pharmacokinetic studies. *R Soc Open Sci*, 2017, 4, 170324.
16. Krenzelok EP. The FDA Acetaminophen Advisory Committee Meeting - what is the future of acetaminophen in the United States? The perspective of a committee member. *Clin Toxicol (Phila)*, 2009, 47, 784-789.
17. Kutluay A, Aslanoglu M. Modification of electrodes using conductive porous layers to confer selectivity for the voltammetric detection of paracetamol in the presence of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sens Actuators B Chem*, 2013, 185, 398-404.
18. LEKADOL 500 mg tablete, [http://halmed.hr//upl/lijekovi/SPC/SPC\\_UP-I-530-09-12-02-512.pdf](http://halmed.hr//upl/lijekovi/SPC/SPC_UP-I-530-09-12-02-512.pdf), pristupljeno 9.6.2020.
19. Liu S, Zha Y, Wang Y, Wei Q, Zhang Y, Zhang Y, Wang H, Qi L, Xu X. Characteristics of aniline and nitrobenzene adsorption on single-walled, multi-walled and graphitized multi-walled carbon nanotubes. *Curr Sci*, 2019, 117, 683-689.
20. Manjunatha P, Nayaka YA, Purushothama HT, Yathisha RO, Vinay MM. Single-walled carbon nanotubes-based electrochemical sensor for the electrochemical investigation of pantoprazole in pharmaceuticals and biological samples. *Ionics*, 2018 25, 2297-2309.
21. Markham, A., Sorkin, E.M. Ondansetron. *Drugs*, 1993, 45, 931-952.
22. Morris JE, Iniewski K. Graphene, Carbon Nanotubes, and Nanostructures. Boca Raton, CRC Press, 2013, str. 3-4.
23. Mostafa HF, Ibrahim MA, Mahrous GM, Sakr A. Assessment of the pharmaceutical quality of marketed enteric coated pantoprazole sodium sesquihydrate products. *Saudi Pharm J*, 2011, 19, 123-127.
24. Nigovic B, Hocevar SB. Square-wave voltammetric determination of pantoprazole using ex situ plated antimony-film electrode. *Electrochim acta*, 2013. 109, 818-822.
25. Nigović B, Behetić S. Elektroanalitika u farmaciji. *Farm Glas*, 2007, 63, 163-175.
26. Nigović B, Sadiković M, Sertić M. Multi-walled carbon nanotubes/Nafion composite film modified electrode as a sensor for simultaneous determination of ondansetron and morphine. *Talanta*, 2014, 122, 187-194.

27. Nigović B. Application of electrochemistry to the analysis of pharmaceuticals and biological samples. U: The Analysis of Pharmacologically Active Compounds and Biomolecules in Real Samples. Injac R, urednik, Kerala, Transworld Research Network, 2009, str. 1-44.
28. Ondansetron, <https://mediately.co/hr/drugs/?q=ondansetron>, pristupljeno 8.6.2020.
29. Ondansetron, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4595#section=Computed-Properties>, pristupljeno 8.6.2020.
30. Ondansetron, <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00904>, pristupljeno 8.6.2020.
31. Ozkan SA, Kauffmann JM, Zuman P. Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences. Heidelberg, Springer, 2015, str. 83-118.
32. pantoprazol, <https://mediately.co/hr/drugs/?q=pantoprazol>, pristupljeno 9.6.2020.
33. pantoprazole, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pantoprazole#section=Melting-Point>, pristupljeno 9.6.2020.
34. pantoprazole, <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00213>, pristupljeno 9.6.2020.
35. paracetamol, <https://mediately.co/hr/drugs/?q=paracetamol>, pristupljeno 9.6.2020.
36. paracetamol, <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00316>, pristupljeno 9.6.2020.
37. Patil MM, Shetti NP, Malode SJ. Electroanalysis of paracetamol at nanoclay modified graphite electrode. *Materials today-proceedings*, 18, 3, 2019, 986-993.
38. Piljac I. Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, 2010, str. 391-642.
39. Poole P. Pantoprazole. *Am J Health Syst Pharm*, 2001, 58, 999-1008.
40. Porwal M, Rastogi V, Kumar A. An overview on carbon nanotubes. *MOJ Bioequivalence & Bioavailability*, 2017, 3, 114-116.
41. Radi A. Square-wave adsorptive cathodic stripping voltammetry of pantoprazole. *J Pharm Biom Anal*, 2003, 33, 687-692.
42. Richardson P, Hawkey CJ, Stack WA. Proton pump inhibitors. Pharmacology and rationale for use in gastrointestinal disorders. *Drugs*, 1998, 56, 307-335.
43. Samadishadlou M, Farshbaf M, Annabi N, Kavetsky T, Khalilov R, Saghfi S, Akbarzadeh A, Mousavi S. Magnetic carbon nanotubes: preparation, physical properties, and application in biomedicine. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2017, 46, 1314-1330.
44. Scholz, F. Voltammetric techniques of analysis: the essentials. *ChemTexts*, 2015, 1, 1-24.

45. Uslu B, Ozkan SA. Electroanalytical Methods for the Determination of Pharmaceuticals: A Review of Recent Trends and Developments. *Anal Lett*, 2011, 44, 2644-2702.
46. Varchenko VV, Strilets D, Belikov KN. Determination of Ondansetron at a Carbon Paste Electrode by Derivative Voltammetry. *Methods Objects Chem Anal*, 2014, 9, 139-144.
47. Vestergaard MC, Kerman K, Hsing I, Tamiya E. Nanobiosensors and Nanobioanalyses. Tokyo, Springer, 2015, str. 3-137.
48. Vinay MM, Arthoba NY. Iron oxide (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles modified carbon paste electrode as an advanced material for electrochemical investigation of paracetamol and dopamine. *Journal of science-advanced materials and devices*, 2019, 4, 442-450.
49. Wang J. Analytical Electrochemistry. New York, Wiley-VCH, 2000, str. 60-114.
50. Wang Y, Luo J, Liu J, Li X, Kong Z, Jin H, Cai X. Electrochemical integrated paper-based immunosensor modified with multi-walled carbon nanotubes nanocomposites for point-of-care testing of 17 $\beta$ -estradiol. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 107, 47-53.
51. Xue, Y.; Zheng, S.; Sun, Z.; Zhang, Y.; Jin, W. Alkaline electrochemical advanced oxidation process for chromium oxidation at graphitized multi-walled carbon nanotubes. *Chemosphere*, 2017, 183, 156-163.
52. Yang X, Feng B, He X, Li F, Ding Y, Fei J. Carbon nanomaterial based electrochemical sensors for biogenic amines. *Microchim Acta* 180, 2013, 935–956.
53. Ye JH, Ponnudurai R, Schaefer R. Ondansetron: a selective 5-HT(3) receptor antagonist and its applications in CNS-related disorders. *CNS Drug Rev*, 2001, 7, 199-213.
54. Zhang, L.L.; Xu, F.F.; Feng, J.W. The influence of graphitization on the structure and electrical properties of carbon nanotubes. *J Inorg Mater*, 2009, 24, 535–538.

## 7. SAŽETAK / SUMMARY

## 7.1. Sažetak

Ondansetron je jedan od najčešće propisivanih lijekova za liječenje mučnine i povraćanja kao posljedica primanja kemoterapije, radioterapije ili operacija. Također postoje lijekovi s kombinacijom ondansetrona i pantoprazola ili ondansetrona i paracetamola.

U ovom radu ispitivana su elektrokemijska svojstva ondansetrona uporabom cikličke i pravokutnovalne voltometrije u elektrolitima različitih pH vrijednosti na nemodificiranoj i modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika. Cilj je bio istražiti njegovo oksidacijsko ponašanje u svrhu razvoja nove elektroanalitičke metode za istovremeno određivanje ondansetrona i pantoprazola te ondansetrona i paracetamola.

Mjerenja cikličkih i pravokutnovalnih voltagrama na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika, pokazala su da su oksidacijski pikovi ondansetrona i pantoprazola preblizu te da ih nije moguće istovremeno određivati.

Analizom smjese ondansetrona i paracetamola na elektrodi od staklastog ugljika pokazalo se kako je 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> najbolji izbor kao osnovni elektrolit. Pokazano je kako su grafitizirane MWCNTs najbolji izbor nanomaterijala za modifikaciju elektrode od staklastog ugljika jer povećavaju osjetljivost metode. Utvrđeno je da su optimalni parametri kod snimanja pravokutnovalnog voltagrama frekvencija 75 Hz, promjena porasta potencijala 4 mV i amplituda pulsa 20 mV.

Rezultati su pokazali da se porastom pH vrijednosti potencijal oksidacijskog vrha paracetamola i pantoprazola pomiče prema manje pozitivnim vrijednostima, što dokazuje da prijenos protona sudjeluje u njihovim oksidacijama. S druge strane porastom pH vrijednosti potencijal oksidacijskog vrha ondansetrona se ne mijenja, što dokazuje da prijenos protona ne određuje brzinu reakcije. S obzirom da ciklički voltagrami sva 3 lijeka nemaju povratne pikove redukcije, pri zadanim uvjetima mjerenja lijekovi podliježu irverzibilnoj redoks reakciji oksidacije.

## 7.2. Summary

Ondansetron is one of the most commonly prescribed medications to treat nausea and vomiting as a result of receiving chemotherapy, radiotherapy or surgery. There are also drugs with a combination of ondansetron and pantoprazole or ondansetron and paracetamol.

This work examined the electrochemical properties of ondansetron using cyclic and squarewave voltammetry in electrolytes of different pH values on unmodified and modified glassy carbon electrode. The purpose was to investigate its oxidative behavior in the development of new electroanalytical methods for the accurate determination of ondansetron and pantoprazole and ondansetron and paracetamol.

Measurements of cyclic and squarewave voltammograms on an unmodified glassy carbon electrode showed that the oxidation peaks of ondansetron and pantoprazole were too close and could not be determined simultaneously.

Analysis of ondansetron and paracetamol on a glassy carbon electrode showed that 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was the best choice as the base electrolyte. Graphitized MWCNTs have been shown to be the best choice of nanomaterials for glassy carbon electrode because they increase the sensitivity of the methods. The optimal setting of the parameters for recording the squarewave frequency 75 Hz, potential step 4 mV and the pulse amplitude of 20 mV were determined.

The results showed that with increasing pH, the oxidation peak potential of paracetamol and pantoprazole shifts to less positive values, proving that proton transfer participates in their oxidations. On the other hand, with increasing pH, the oxidation peak potential of ondansetron does not change, which proves that proton transfer does not determine the reaction rate. Since cyclic voltammograms of all 3 drugs do not have reverse reduction peaks, under given measurement conditions the drugs are subject to an irreversible redox oxidation reaction.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija/Medicinska biokemija  
Zavod za (ime Zavoda) ili  
Samostalni kolegij (naslov kolegija)  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska  
ili druga adresa

Diplomski rad

### ELEKTROANALITIČKA SVOJSTVA ONDANSETRONA NA ELEKTRODI IZMIJENJENOJ RAZLIČITIM NANOMATERIJALIMA

Antun Jakčin

#### SAŽETAK

Ondansetron je jedan od najčešće propisivanih lijekova za liječenje mučnine i povraćanja kao posljedica primanja kemoterapije, radioterapije ili operacija. Također postoje lijekovi s kombinacijom ondansetrona i pantoprazola ili ondansetrona i paracetamola. U ovom radu ispitivana su elektrokemijska svojstva ondansetrona uporabom cikličke i pravokutnovalne voltametrije u elektrolitima različitih pH vrijednosti na nemodificiranoj i modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika. Cilj je bio istražiti njegovo oksidacijsko ponašanje u svrhu razvoja nove elektroanalitičke metode za istovremeno određivanje ondansetrona i pantoprazola te ondansetrona i paracetamola. Mjerenja cikličkih i pravokutnovalnih voltamograma na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika, pokazala su da su oksidacijski pikovi ondansetrona i pantoprazola preblizu te da ih nije moguće istovremeno određivati. Analizom smjese ondansetrona i paracetamola na elektrodi od staklastog ugljika pokazalo se kako je 0,1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> najbolji izbor kao osnovni elektrolit. Pokazano je kako su grafitizirane MWCNTs najbolji izbor nanomaterijala za modifikaciju elektrode od staklastog ugljika jer povećavaju osjetljivost metode. Utvrđeno je da su optimalni parametri kod snimanja pravokutnovalnog voltamograma frekvencija 75 Hz, promjena porasta potencijala 4 mV i amplituda pulsa 20 mV. Rezultati su pokazali da se porastom pH vrijednosti potencijal oksidacijskog vrha paracetamola i pantoprazola pomiče prema manje pozitivnim vrijednostima, što dokazuje da prijenos protona sudjeluje u njihovim oksidacijama. S druge strane porastom pH vrijednosti potencijal oksidacijskog vrha ondansetrona se ne mijenja, što dokazuje da prijenos protona ne određuje brzinu reakcije. S obzirom da ciklički voltamogrami sva 3 lijeka nemaju povratne pikove redukcije, pri zadanim uvjetima mjerenja lijekovi podliježu irverzibilnoj redoks reakciji oksidacije.

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

- Rad sadrži: 65 stranica, 39 grafičkih prikaza, 0 tablica i 54 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.
- Ključne riječi: Ondansetron, pantoprazol, paracetamol, ciklička voltametrija, pravokutnovalna voltametrija, 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. Ana Mornar Turk**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.  
**Dr. sc. Sandra Jurić**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen: lipanj 2020.

## 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

### ELECTROANALYTICAL CHARACTERISTICS OF ONDANSETRON ON ELECTRODE MODIFIED WITH VARIOUS NANOMATERIALS

**Antun Jakčin**

#### SUMMARY

Ondansetron is one of the most commonly prescribed medications to treat nausea and vomiting as a result of receiving chemotherapy, radiotherapy or surgery. There are also drugs with a combination of ondansetron and pantoprazole or ondansetron and paracetamol. This work examined the electrochemical properties of ondansetron using cyclic and squarewave voltammetry in electrolytes of different pH values on unmodified and modified glassy carbon electrode. The purpose was to investigate its oxidative behavior in the development of new electroanalytical methods for the accurate determination of ondansetron and pantoprazole and ondansetron and paracetamol. Measurements of cyclic and squarewave voltammograms on an unmodified glassy carbon electrode showed that the oxidation peaks of ondansetron and pantoprazole were too close and could not be determined simultaneously. Analysis of ondansetron and paracetamol on a glassy carbon electrode showed that 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was the best choice as the base electrolyte. Graphitized MWCNTs have been shown to be the best choice of nanomaterials for glassy carbon electrode because they increase the sensitivity of the methods. The optimal setting of the parameters for recording the squarewave frequency 75 Hz, potential step 4 mV and the pulse amplitude of 20 mV were determined. The results showed that with increasing pH, the oxidation peak potential of paracetamol and pantoprazole shifts to less positive values, proving that proton transfer participates in their oxidations. On the other hand, with increasing pH, the oxidation peak potential of ondansetron does not change, which proves that proton transfer does not determine the reaction rate. Since cyclic voltammograms of all 3 drugs do not have reverse reduction peaks, under given measurement conditions the drugs are subject to an irreversible redox oxidation reaction.

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

Thesis includes: 65 pages, 39 figures, 0 tables and 54 references. Original is in Croatian language.

Keywords: ondansetron, pantoprazole, paracetamol, 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  
**Ana Mornar Turk, Ph.D.** *Associate 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: June 2020.