

УДК 543.5

¹Жолт Кормош, к.х.н., проф.; ¹Людмила Савчук, к.б.н., доц.;
²Наталія Кормош, гол. цикл. ком.; ³Микола Шевчук, к.х.н., доц.;
²Катерина Люшук, к.п.н., гол. цикл. ком.; ¹Тетяна Савчук, к.х.н., доц.;
¹Світлана Корольчук, к.х.н., доц.

МЕТФОРМІН-ЧУТЛИВИЙ ІОН-СЕЛЕКТИВНИЙ ЕЛЕКТРОД

¹Волинський національний університет імені Лесі Українки, пр. Волі, 13, м. Луцьк, Україна, 43025, e-mail: kormosh@vnu.edu.ua, zholt-1971@ukr.net

²Волинський медичний інститут, бул. Лесі Українки, 2, м. Луцьк, Україна, 43000

³Луцький національний технічний університет, вул. Львівська, 75 м. Луцьк, Україна, 43018

Метформін у його протонованій формі як метформіну гідрохлорид використовується у всьому світі як передовий протидіабетичний препарат для діабету другого типу. Гіперінсулінемія та інсулінорезистентність клітин є основними причинами цього захворювання. Для пацієнтів з цукровим діабетом метформіну гідрохлорид (МЕТ) діє, покращуючи чутливість клітин до інсуліну.

Показано, що метформін із метиловим оранжевим (МО) утворює іонний асоціат (ІА), який можна виділити у твердому вигляді, та придатний для створення пластифікованих мембранних метформін-чутливих іон-селективних.

Методом молекулярного моделювання обґрунтовано енергоефективність формування ІА. Молекулярне моделювання систем «МО⁻ + МЕТ⁺» та пов'язані з ним розрахунки проводили в базисі РМЗ для різноманітних вихідних варіантів розташування протиіонів відносно один одного (процедура «single point»). Геометричну оптимізацію іонів проводили методом молекулярної механіки ММ+. Стандартну ентальпію (ΔH_0) утворення іонів та асоціату «МЕТ⁺ + МО⁻» визначали напівемпіричним методом РМЗ. Різниця в енергії утворення іонного асоціату і сум енергій утворення його компонентів дорівнює 258 кДж/моль. Отже, процес утворення ІА є термодинамічно вигідним.

Здійснено моделювання та оптимізація складу мембран. Результати дослідження впливу природи пластифікаторів на електроаналітичні властивості розроблених МЕТ-чутливих електродів, свідчать про те, що кращим пластифікатором для системи є ТКФ або ДНФ. Для цих розчинників добуток величини діелектричної проникності та полярності Роршнайдера ($\epsilon \times \text{PR}$) становлять 123,5 та 175 відповідно. Для пластифікаторів, які виявилися менш ефективними (ДБФ і ДЕФ), ці величини становлять 235,6 та 326, відповідно. Для мембран з однаковим вмістом пластифікатора одного гомологічного ряду (ДЕФ, ДБФ, ДОФ, ДНФ) крутизна електродної функції зменшується із зростанням діелектричної проникності розчинника-пластифікатора. Показано, що робочий інтервал рН електрода від 2 до 11. Дрейф потенціалу не перевищує 1-3 мВ/добу. Стабільні значення електродних потенціалів устанавлюються за 5-15 с. Стабільність величини електроаналітичних характеристик оптимізованих мембран прослідковується не менше трьох місяців. Розроблені сенсори проявляють задовільну селективність по відношенню до цілої низки речовин та іонів. Визначенню МЕТ не заважають 300-1000 кратні кількості глюкози, крохмалю, полівінілового спирту, іонів Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Ba²⁺ та ін. Це, в свою чергу, дає можливість практичного використання розроблених МЕТ-чутливих електродів у різних об'єктах.

Розроблена методика потенціометричного визначення метформіну, яка апробована при його визначенні у лікарських формах.

Ключові слова: метформін; метиловий оранжевий; іонний асоціат; іон-селективний електрод.

Метформін (N,N-диметилбігуанідин) у його протонаній формі як метформіну гідрохлорид використовується у всьому світі як передовий протидіабетичний препарат для діабету другого типу [1-4]. Гіперінсулінемія та інсулінорезистентність клітин є основними причинами цього захворювання. Для пацієнтів з цукровим діабетом метформіну гідрохлорид (надалі – МЕТ) діє, покращуючи чутливість клітин до інсуліну. В результаті клітинні рецептори можуть розпізнавати молекули інсуліну, і інсулін розбавляється в крові. Крім цієї добре вивченої частини, МЕТ відіграє також досить різноманітну, менш відому роль. Останні дослідження повідомляють про можливий зв'язок між підвищеним ризиком деяких видів раку та діабетом другого типу [5].

МЕТ активує протеїнкіназу, активовану аденозинмонофосфатом, що призводить до зниження швидкості росту пухлини [6]. Він також націлений на певні типи ракових клітин і онкогенів як *in vivo*, так і *in vitro* [1, 7-9]. Клінічні онкологи часто використовують МЕТ як потенційний протипухлинний засіб одночасно з хіміотерапією онкохворих [10-13].

МЕТ доступний як безрецептний препарат за доступною ціною, ніж інші ліки подібної категорії. Доза може варіюватися від 50 мг до 2000 мг на добу [14]. Через високі дози в деяких частинах світу метформін міститься у водоймах і стічних водах, що спричиняє забруднення води та перешкоджає морському біорізноманіттю [15, 16].

МЕТ має два різні значення констант протонування, pK_1 та pK_2 , що характеризує рівноваги між дипротонною / монопротонною та монопротонною / молекулярною формами, відповідно. Значення цих величин – $pK_1 = 2,8$ та $pK_2 = 11,6$ [17]; $pK_1 = 3,1$ та $pK_2 = 13,8$ [18].

Інтенсивне застосування метформіну обумовлює потребу в наявності надійних методів та методик його визначення у різноманітних об'єктах.

Останнім часом для визначення біологічно-активних речовин добре зарекомендували себе потенціометричні методи з використанням іон-селективних електродів (ІСЕ) [19-25]. Для визначення МЕТ запропоновано деякі потенціометричні сенсори [26-28]. Однак, їхні характеристики з

тих чи інших причин, не завжди відповідають вимогам що до забезпеченням правильності визначення МЕТ і певних об'єктах.

Метою даної роботи є створення нового метформін-чутливого сенсора на основі іонного асоціату (ІА) метформіну з метиловим оранжевим (МО), оптимізувати електроаналітичні характеристики та провести його апробацію при визначенні МЕТ у різних об'єктах.

Матеріали та методи дослідження

Стандартний розчин метформіну готували розчиненням його точної наважки в розчині фонового електроліту.

Іонні асоціати отримували шляхом осадження при змішуванні розчину МЕТ ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л) з МО у співвідношенні 1:1. Суміш перемішували і залишали при кімнатній температурі на 24 год. Осад, що випав, відфільтровували, кілька разів промивали холодною водою і сушили при кімнатній температурі протягом 3 діб.

Пластифіковані ПВХ мембрани готували наступним чином: 0,7 г полівінілхлориду (ПВХ) та певну кількість ІА (1-15 % від загальної маси мембрани) перемішували. Вводили необхідну кількість пластифікатора диоктилфталат (ДОФ), дибутилфталат (ДБФ), дибутилсебаценат (ДБС), динонілфталат (ДНФ), диетилфталат (ДЕФ), трикрезилфосфат (ТКФ), 0,5-1,0 мл розчинника (циклогексанону чи тетрагідрофурану) і вміст ретельно перемішували до однорідної маси. Отриману суміш переносили у форму (кільце діаметром 1,5 см), попередньо відшліфовану та прикріплену до скляної підкладки, та сушили на повітрі протягом 5-7 діб. З отриманих плівок вирізали мембрану діаметром 0,7 см і приклеювали до торця полівінілхлоридної трубки.

Потенціометричний вимір проводили на іономері АІ-123 при кімнатній температурі, як електрод порівняння використовували стандартний хлоридсрібний електрод ЕВЛ-1МЗ. При вимірах користувалися класичною схемою електрохімічного кола.

Іонну силу розчинів підтримували 0,1 моль/л розчином LiCl. Значення рН розчинів встановлювали за допомогою буферної суміші (0,04 моль/л розчини оцтової, борної, фосфатної кислот у суміші з

0,02 моль/л розчином NaOH). Контроль рН здійснювали рН-метром рН-301 з використанням скляного електрода ЕВЛ – 1МЗ.

Молекулярне моделювання систем « $\text{MO}^- + \text{MET}^+$ » та пов'язані з ним розрахунки проводили з використанням напівемпіричного метода РМЗ для різноманітних вихідних варіантів розташування протиіонів відносно один одного (процедура «single point»). Геометричну оптимізацію іонів проводили методом молекулярної механіки ММ+.

Результати та їх обговорення

Молекулярне моделювання утворення ІА. Методом математичного моделювання обґрунтовано енергоефективність формування ІА. Молекулярне моделювання систем « $\text{MO}^- + \text{MET}^+$ » та пов'язані з ним розрахунки проводили з використанням напівемпіричного метода РМЗ для різноманітних вихідних варіантів розташування протиіонів відносно один одного (процедура «single point»). Геометричну оптимізацію іонів проводили методом молекулярної механіки ММ+.

Стандартну ентальпію (ΔH_0) утворення іонів та асоціату « $\text{MET}^+ + \text{MO}^-$ » визначали напівемпіричним методом РМЗ. Параметри цих методів підібрані таким чином, щоб вони дозволяли найкращим чином відтворювати експериментальні значення ΔH_0 органічних сполук. Як приклад, у табл. 1 та рис.1 наведені енергетичні характеристики взаємодії « $\text{MO}^- + \text{MET}^+$ ».

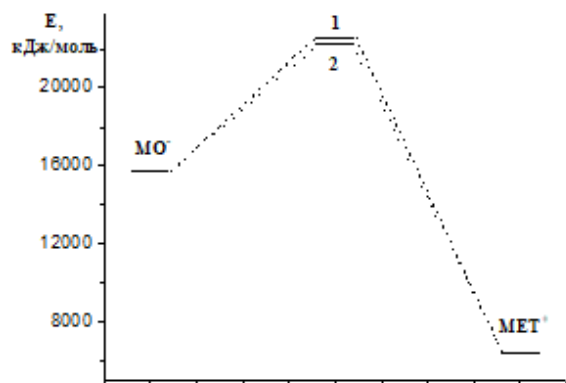


Рис. 1. Рівні енергії іонів MO^- , MET^+ та їх ІА; (1) сума енергій MO^- і MET^+ і (2) енергія ІА.

Таблиця 1. Енергетичні характеристики взаємодії $\text{MO}^- + \text{MET}^+$

Частинка	ΔE , кДж/моль
MET^+	15745
MO^-	6420
$\Sigma (\text{MO}^- + \text{MET}^+)$	22165
ІА ($\text{MO}^- \text{MET}^+$)	22423
$\Sigma (\text{MO}^- + \text{MET}^+) - \text{ІА}$	258

Як видно, різниця в енергії утворення іонного асоціату і сум енергій утворення його компонентів дорівнює 258 кДж/моль. Отже, процес утворення ІА є термодинамічно вигідним.

Моделювання та оптимізація складу мембран. Отримані ІСЕ із різним умістом ІА дають відклик в присутності $n \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-1}$ моль/л MET. При вмісті ІА від 1 до 5 % крутизна електродної функції є дещо нижчою теоретичної, нижня межа виявлення становить $n \cdot 10^{-5}$ моль/л MET.

Як мембранні пластифікатори досліджували такі органічні розчинники з відповідною діелектричною проникністю (ϵ) та полярністю Роршнайдера (ПР): діетилфталат (8,15; 40), дибутилфталат (6,1-6,4; 38), дибутилсебаценат, діоктилфталат; (5,1; 30), динонілфталат (4,47; 26), трикрезилфосфат (6,7-7; 25).

Результати дослідження впливу природи пластифікаторів на електроаналітичні властивості розроблених сенсорів, свідчать про те, що найкращим пластифікатором для системи є ТКФ або ДНФ. Для цих розчинників добуток величини діелектричної проникності та полярності Роршнайдера ($\epsilon \times \text{ПР}$) становлять 123,5 та 175 відповідно. Для пластифікаторів, які виявилися менш ефективними (ДБФ і ДЕФ), ці величини становлять 235,6 та 326 відповідно. Для мембран з однаковим вмістом пластифікатора одного гомологічного ряду (ДЕФ, ДБФ, ДОФ, ДНФ) нахил електродної функції зменшується із зростанням діелектричної проникності розчинника-пластифікатора (рис. 2).

Вивчено вплив різних факторів на електрохімічні характеристики отриманих ІСЕ: показано, що робочий інтервал рН електрода від 2 до 11. Дрейф потенціалу не перевищує 1-3 мВ/добу. Стабільні значення

електродних потенціалів установлюються за 5-15 с. Стабільність електроаналітичних характеристик оптимізованих мембран прослідковується не менше трьох місяців.

Вивчено вплив внутрішнього розчину на стабільність потенціалів ІСЕ. Для цього

використовували розчини метформіну від $1 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Виявилось, що зміна концентрації внутрішнього розчину не впливає на стабільність характеристики мембран.

Таблиця 2. Результати визначення метформіну у різних лікарських формах ($P = 0,95$; $n = 5$)

Назва, виробник, країна	Реглам. уміст, мг	Знайдено, мг					
		Пряма потенц.	RSD, %	Станд. добавок	RSD, %	Титрування тетрафеніл боратом	RSD, %
Метформін сандоз, Сандоз Фармасьютікалз, Польща	850	846,3 ± 5,9	8,1	847,2 ± 5,3	7,2	847,5 ± 4,5	5,1
	500	502,4 ± 4,6	9,3	502,2 ± 4,9	8,0	501,8 ± 3,2	4,3
Метформін-Тева, Тева Фармацевтікал Індастріз Лтд, Ізраїль.	1000	998,3 ± 4,3	5,4	998,6 ± 2,9	4,4	997,9 ± 2,8	3,5
Метформін-Санофі, ТОВ «Санофі-Авентіс Україна», Україна.	1000	997,6 ± 3,9	4,7	998,7 ± 2,9	5,1	999,9 ± 1,5	2,9
	850	851,2 ± 2,1	7,0	849,3 ± 5,0	7,2	850,2 ± 1,9	3,8
	500	501,2 ± 3,8	8,3	502,0 ± 2,2	6,2	501,9 ± 1,1	2,9

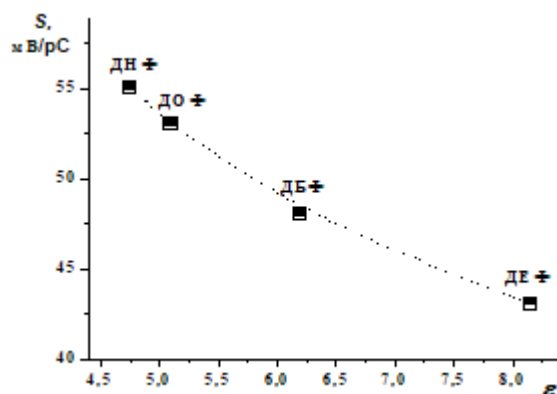


Рис. 2. Вплив діелектричної проникності пластифікатора на крутизну електродної функції MET-чутливого електроду.

Вивчено вплив різних речовин на відклик розроблених метформін-чутливих електродів. Встановлено, що розроблені сенсори проявляють задовільну селективність по відношенню до цілої низки речовин та іонів. Визначенню MET не заважають 300 та 1000 кратні кількості глюкози, крохмалю, полівінілового спирту, іонів Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} . Це, в свою чергу, дає можливість практичного використання розроблених MET-чутливих сенсорів при аналізі різноманітних об'єктів.

Визначення метформіну. Метформін визначали методами прямої потенціометрії, стандартних добавок та потенціометричного титрування (як титрант використовували розчин тетрафенілборату натрію). Таблетки подрібнювали, ретельно розтирали до однорідної маси; наважку з отриманого порошку переносили у мірні колби на 50 мл, розчиняли в розчині фонового електроліту із рН 7. Одержані результати наведені в табл. 2.

Як видно із одержаних даних, розроблені сенсори є надійними в експлуатації.

Висновки

Показано, що метформін із метиловим оранжевим утворює іонний асоціат, який можна виділити у твердому вигляді, та придатний для створення пластифікованих мембранних потенціометричних метформін-чутливих сенсорів.

Методом математичного моделювання обґрунтовано енергоефективність формування ІА.

Кращим пластифікатором для системи є ТКФ або ДНФ. Для цих розчинників добуток величини діелектричної проникності та полярності Роршнайдера ($\epsilon \times \text{PP}$)

становлять 123,5 та 175 відповідно. Для пластифікаторів, які виявилися менш ефективними (ДБФ і ДЕФ), ці величини становлять 235,6 та 326 відповідно. Для мембран з однаковим вмістом пластифікатора одного гомологічного ряду (ДЕФ, ДБФ, ДОФ, ДНФ) нахил електродної функції зменшується із зростанням діелектричної проникності розчинника-пластифікатора.

Встановлено, що розроблені сенсори проявляють задовільну селективність по відношенню до цілої низки речовин та іонів. Визначенню МЕТ не заважають 300 та 1000 кратні кількості глюкози, крохмалю, полівінілового спирту, іонів Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} . Це, в свою чергу, дає можливість практичного використання розроблених МЕТ-чутливих сенсорів при аналізі різноманітних об'єктів.

Список використаних джерел

1. García-Sánchez M., Lobaton-Ginsberg M., Ferreira-Hermosillo A. Metformin in Differentiated Thyroid Cancer: Molecular Pathways and Its Clinical Implications. *Biomolecules*. 2022, 12(4), 574. Doi: 10.3390/biom12040574.
2. Mondal S., Samajdar R.N., Mukherjee S., Bhattacharyya A.J., Bagchi B. Unique Features of Metformin: A Combined Experimental, Theoretical, and Simulation Study of Its Structure, Dynamics, and Interaction Energetics with DNA Grooves. *J. Phys. Chem. B*. 2018, 122(8), 2227–2242. Doi: 10.1021/acs.jpcc.7b11928.
3. Group D.P.P.R. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346(6), 393–403. <https://jdc.jefferson.edu/medfp/322>.
4. DeVries J.H., Bain S.C., Rodbard H.W., Seufert J., D'Alessio D., Thomsen A.B., Zychma M., Rosenstock J., Group L.-D.S. Sequential intensification of metformin treatment in type 2 diabetes with liraglutide followed by randomized addition of basal insulin prompted by A1C targets. *Diabetes care*. 2012, 35, 1446–1454. Doi: 10.2337/dc11-1928.
5. Evans J.M., Donnelly L.A., Emslie-Smith A.M., Alessi D.R., Morris A.D. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *Bmj*. 2005, 330, 1304–1305. Doi: 10.1136/bmj.38415.708634.F7.
6. Zhou G., Myers R., Li Y., Chen Y., Shen X., Fenyk-Melody J., Wu M., Ventre J., Doebber T., Fujii N. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J. Clin. Investig.* 2001, 108, 1167. Doi: 10.1172/JCI13505.
7. Akinyeke T., Matsumura S., Wang X., Wu Y., Schalker E.D., Saxena A., Yan W., Logan S.K., Li X. Metformin targets c-MYC oncogene to prevent prostate cancer. *Carcinogenesis*. 2013, 34, 2823–2832. Doi: 10.1093/carcin/bgt307.
8. Lonardo E., Cioffi M., Sancho P., Sanchez-Ripoll Y., Trabulo S.M., Dorado J., Balic A., Hidalgo M., Heesch C. Metformin targets the metabolic achilles heel of human pancreatic cancer stem cells. *PLoS one*. 2013, 8, e76518. Doi: 10.1371/journal.pone.0076518.
9. Shank J.J., Yang K., Ghannam J., Cabrera L., Johnston C.J., Reynolds R.K., Buckanovich R.J. Metformin targets ovarian cancer stem cells in vitro and in vivo. *Gynecol. Oncol.* 2012, 127, 390–397. Doi: 10.1016/j.ygyno.2012.07.115.
10. Garcia A., Tisman G. Metformin, B12, and enhanced breast cancer response to chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2009, 28, e19. Doi: 10.1200/JCO.2009.25.7857.
11. Iliopoulos D., Hirsch H.A., Struhl K. Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. *Cancer research*. 2011, 71, 3196–3201. Doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3471.
12. Jiralerspong S., Palla S.L., Giordano S.H., Meric-Bernstam F., Liedtke C., Barnett C.M., Hsu L., Hung M.-C., Hortobagyi G.N., Gonzalez-Angulo A.M. Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009, 27, 3297–3302. Doi: 10.1200/JCO.2009.19.6410.
13. Perumalsamy V., Kumar H.D., Suresh S. Conjugation of Curcumin and Metformin for Improved Pharmacological Profile in Cancer Therapy: An In Silico Approach. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2023, 13(2), 101. Doi: 10.33263/BRIAC132.101.
14. Hirst J.A., Farmer A.J., Ali R., Roberts N.W., Stevens R.J. Quantifying the effect of metformin treatment and dose on glycemic control. *Diabetes Care*. 2012, 35, 446–454. Doi: 10.2337/dc11-1465.
15. Scheurer M., Sacher F., Brauch H.-J. Occurrence of the antidiabetic drug metformin in sewage and surface waters in Germany. *J. Environ. Monit.* 2009, 11, 1608–1613. Doi: 10.1039/b909311g.
16. Rao C.V. Biguanides. in *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition), 2014. 452–455. <https://www.elsevier.com/books/encyclopedia-of-toxicology/wexler/978-0-12-386454-3>.
17. Saxena P., Raghuvanshi A.S., Jain U.K., Patel A., Gupta N. UV spectrophotometric method for the quantitation of metformin hydrochloride in pharmaceutical dosage form. *Orient. J. Chem.* 2010, 26(5), 1553–1556. <http://www.orientjchem.org/?p=24645>.
18. Hernandez B., Pflüger F., Kruglik S.G., Cohen R., Ghomi M. Protonation-deprotonation and

- structural dynamics of antidiabetic drug metformin. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2015, 114, 42–48. Doi: 10.1016/j.jpba.2015.04.041.
19. Kormosh Zh., Savchuk T. Potentiometric sensor for povidone-iodine determination. *Pharm. Chem. J.* 2016, 50(8), 556–557. Doi: 10.1007/s11094-016-1489-8.
20. Zubenja N., Kormosh Z., Semenyshyn D., Kochubei V., Korolchuk S., Savchuk T. Design and application of levamisole-selective membrane sensor. *Anal. Bioanal. Electrochem.* 2016, 8(4), 466–477. [http://abechem.ir/No.%204-2016/2016,%208\(4\),%20466-477.pdf](http://abechem.ir/No.%204-2016/2016,%208(4),%20466-477.pdf).
21. Zubenja N., Kormosh Z., Saribekova D., Sukharev S. Potentiometric membrane sensors for levamisole determination. *Mediterr. Journ. Chem.* 2016, 6(2), 7–14. Doi: 10.13171/mjc61/016111516/kormosh.
22. Kormosh Zh.A., Savchuk T.I., Bazel Ya.R., Kormosh N., Zyma S. Potentiometric sensor for the determination of povidone-iodine. *Anal. Bioanal. Electrochem.* 2014, 6(3), 367–378. http://abechem.ir/No.%203-2014/2014,6_3_,367-378.pdf.
23. Antal I., Kormosh Z., Bazel Y., Lysenko S., Kormosh N. Design of a Vitamin B₁-Selective Electrode Based on an Ion-Pair and Its Application to Pharmaceutical Analysis. *Electroanalysis.* 2010, 22(22), 2714–2719. Doi: 10.1002/elan.201000124.
24. Zubenja N., Kormosh Zh., Semenyshyn D., Kochubei V., Kormosh A. Design of a Gramine-Selective Membrane Sensor. *Anal. Bioanal. Electrochem.* 2018, 10(5), 531–540. [http://abechem.ir/No.%205-2018/2018,%2010\(5\),%20531-540.pdf](http://abechem.ir/No.%205-2018/2018,%2010(5),%20531-540.pdf).
25. Kormosh Z.A., Markovska N.A., Kormosh N.N. Potentiometric Sensor for Benzylpenicillin Determination. *Pharm. Chem. J.* 2019, 53, 577–579. Doi: 10.1007/s11094-019-02040-w.
26. Khaled E., Kamel M.S. Cyclodextrin-Based Potentiometric Sensors for Metformin. *Sensing in Electroanalysis* (K. Kalcher, R. Metelka, I. Švancara, K. Vytras; Eds.). 2011. University Press Centre, Pardubice, 323–335. https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/42526/KhaledE_Cyclodextrin-Based_2011.pdf?sequence=1.
27. Elmorsy K., Hassan H., Manal K., Barsoum B. Novel Metformin Carbon Paste and PVC Electrodes. *Current Pharm. Anal.* 2007, 3, 262–267. Doi: 10.2174/157341207782418776.
28. Khaled E., Kamel M.S., Hassan H.N., Abd El-Alim Sameh H., Aboul-Enein H.Y. Miniaturized ionophore-based potentiometric sensors for the flow-injection determination of metformin in pharmaceutical formulations and biological fluids. *Analyst.* 2012, 23(137), 5680–5687. Doi: 10.1039/C2AN35696A.

Стаття надійшла до редакції: 06.05.2022.

METFORMIN-SENSITIVE ION-SELECTIVE ELECTRODE

¹Zholt Kormosh, ¹Lyudmila Savchuk, ²Natalia Kormosh, ³Mikola Shevchuk,
²Katherina Lyushuk, ¹Tanya Savchuk, ¹Svitlana Korolchuk

¹Lesya Ukrainka Volyn National University, Voli av., 13, Lutsk, Ukraine, 43025

²Volyn Medical Institute, Blvd. Lesya Ukrainka, 2, Lutsk, Ukraine, 43000

³Lutsk National Technical University, Lvivskaia st., 75, Lutsk, Ukraine, 43018

Metformin in its protonated form as metformin hydrochloride is used worldwide as an advanced antidiabetic drug for type 2 diabetes. Hyperinsulinemia and insulin resistance of cells are the main causes of this disease. For patients with diabetes, metformin hydrochloride (MET) works by improving cell sensitivity to insulin.

It has been shown that metformin with methyl orange (MO) forms an ionic associate that can be isolated in solid form and is suitable for the creation of plasticized membrane potentiometric metformin-sensitive sensors.

The energy efficiency of IA formation is substantiated by the method of mathematical modeling. Molecular modeling of MO⁻ + MET⁺ systems and related calculations were performed using the PM3 method for various initial variants of counter ion relative to each other (single point procedure). Geometric optimization of ions was performed by the method of molecular mechanics MM+. The standard enthalpy (ΔH_0) of ion formation and the association “MET⁺ + MO⁻” was

determined by the semi-empirical method PM3. The difference in the energy of formation of the ionic associate and the sum of the energies of formation of its components is 258 kJ/mol. Therefore, the process of IA formation is thermodynamically advantageous.

Modeling and optimization of membrane composition is carried out. The results of the study of the influence of the nature of plasticizers on the electroanalytical properties of the developed sensors indicate that the best plasticizer for the system is TCP or DNF. For these solvents, the product of the dielectric constant and Rohrschneider polarity ($\epsilon \times PR$) is 123.5 and 175, respectively. For plasticizers that were less effective (DBF and DEF), these values are 235.6 and 326 respectively. For membranes with the same content of plasticizer of one homologous series (DEF, DBF, DOF, DNF), the slope of the Nernst function decreases with increasing dielectric constant of the plasticizer solvent. It is shown that the working pH range of the electrode is from 2 to 11. The drift potential does not exceed 1-3 mV/day. Stable values of electrode potentials are set for 5-15 s. The stability of the electroanalytical characteristics of the optimized membranes can be traced for at least three months. The developed sensors show satisfactory selectivity in relation to a number of substances and ions. The 300-1000 amount of glucose, starch, polyvinyl alcohol, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} ions do not interfere with MET determination. This, in turn, allows the practical use of developed MET-sensitive sensors in a variety of objects.

A method of potentiometric determination of metformin has been developed, which has been tested in its determination in dosage forms.

Key words: metformin; methyl orange; ionic associate; ion-selective electrode.

References

1. García-Sánchez M., Lobaton-Ginsberg M., Ferreira-Hermosillo A. Metformin in Differentiated Thyroid Cancer: Molecular Pathways and Its Clinical Implications. *Biomolecules*. 2022, 12(4), 574. Doi: 10.3390/biom12040574.
2. Mondal S., Samajdar R.N., Mukherjee S., Bhattacharyya A.J., Bagchi B. Unique Features of Metformin: A Combined Experimental, Theoretical, and Simulation Study of Its Structure, Dynamics, and Interaction Energetics with DNA Grooves. *J. Phys. Chem. B*. 2018, 122(8), 2227–2242. Doi: 10.1021/acs.jpcc.7b11928.
3. Group D.P.P.R. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N. Engl. J. Med.* 2002, 346(6), 393–403. <https://jdc.jefferson.edu/medfp/322>.
4. DeVries J.H., Bain S.C., Rodbard H.W., Seufert J., D'Alessio D., Thomsen A.B., Zychma M., Rosenstock J., Group L.-D.S. Sequential intensification of metformin treatment in type 2 diabetes with liraglutide followed by randomized addition of basal insulin prompted by A1C targets. *Diabetes care*. 2012, 35, 1446–1454. Doi: 10.2337/dc11-1928.
5. Evans J.M., Donnelly L.A., Emslie-Smith A.M., Alessi D.R., Morris A.D. Metformin and reduced risk of cancer in diabetic patients. *Bmj*. 2005, 330, 1304–1305. Doi: 10.1136/bmj.38415.708634.F7.
6. Zhou G., Myers R., Li Y., Chen Y., Shen X., Fenyk-Melody J., Wu M., Ventre J., Doebber T., Fujii N. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J. Clin. Investig.* 2001, 108, 1167. Doi: 10.1172/JCI13505.
7. Akinyeke T., Matsumura S., Wang X., Wu Y., Schalfer E.D., Saxena A., Yan W., Logan S.K., Li X. Metformin targets c-MYC oncogene to prevent prostate cancer. *Carcinogenesis*. 2013, 34, 2823–2832. Doi: 10.1093/carcin/bgt307.
8. Lonardo E., Cioffi M., Sancho P., Sanchez-Ripoll Y., Trabulo S.M., Dorado J., Balic A., Hidalgo M., Heeschen C. Metformin targets the metabolic achilles heel of human pancreatic cancer stem cells. *PLoS one*. 2013, 8, e76518. Doi: 10.1371/journal.pone.0076518.
9. Shank J.J., Yang K., Ghannam J., Cabrera L., Johnston C.J., Reynolds R.K., Buckanovich R.J. Metformin targets ovarian cancer stem cells in vitro and in vivo. *Gynecol. Oncol.* 2012, 127, 390–397. Doi: 10.1016/j.ygyno.2012.07.115.
10. Garcia A., Tisman G. Metformin, B12, and enhanced breast cancer response to chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2009, 28, e19. Doi: 10.1200/JCO.2009.25.7857.
11. Iliopoulos D., Hirsch H.A., Struhl K. Metformin decreases the dose of chemotherapy for prolonging tumor remission in mouse xenografts involving multiple cancer cell types. *Cancer research*. 2011, 71, 3196–3201. Doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3471.
12. Jiralerspong S., Palla S.L., Giordano S.H., Meric-Bernstam F., Liedtke C., Barnett C.M., Hsu L., Hung M.-C., Hortobagyi G.N., Gonzalez-Angulo A.M. Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant

- chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2009, 27, 3297–3302. Doi: 10.1200/JCO.2009.19.6410.
13. Perumalsamy V., Kumar H.D., Suresh S. Conjugation of Curcumin and Metformin for Improved Pharmacological Profile in Cancer Therapy: An In Silico Approach. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2023, 13(2), 101. Doi: 10.33263/BRIAC132.101.
14. Hirst J.A., Farmer A.J., Ali R., Roberts N.W., Stevens R.J. Quantifying the effect of metformin treatment and dose on glycemic control. *Diabetes Care*. 2012, 35, 446–454. Doi: 10.2337/dc11-1465.
15. Scheurer M., Sacher F., Brauch H.-J. Occurrence of the antidiabetic drug metformin in sewage and surface waters in Germany. *J. Environ. Monit.* 2009, 11, 1608–1613. Doi: 10.1039/b909311g.
16. Rao C.V. Biguanides. in *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition), 2014. 452–455. <https://www.elsevier.com/books/encyclopedia-of-toxicology/wexler/978-0-12-386454-3>.
17. Saxena P., Raghuvanshi A.S., Jain U.K., Patel A., Gupta N. UV spectrophotometric method for the quantitation of metformin hydrochloride in pharmaceutical dosage form. *Orient. J. Chem.* 2010, 26(5), 1553–1556. <http://www.orientjchem.org/?p=24645>.
18. Hernandez B., Pflüger F., Kruglik S.G., Cohen R., Ghomi M. Protonation-deprotonation and structural dynamics of antidiabetic drug metformin. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2015, 114, 42–48. Doi: 10.1016/j.jpba.2015.04.041.
19. Kormosh Zh., Savchuk T. Potentiometric sensor for povidone-iodine determination. *Pharm. Chem. J.* 2016, 50(8), 556–557. Doi: 10.1007/s11094-016-1489-8.
20. Zubenya N., Kormosh Z., Semenyshyn D., Kochubei V., Korolchuk S., Savchuk T. Design and application of levamisole-selective membrane sensor. *Anal. Bioanal. Electrochem.* 2016, 8(4), 466–477. [http://abechem.ir/No.%204-2016/2016,%208\(4\),%20466-477.pdf](http://abechem.ir/No.%204-2016/2016,%208(4),%20466-477.pdf).
21. Zubenya N., Kormosh Z., Saribekova D., Sukharev S. Potentiometric membrane sensors for levamisole determination. *Mediterr. Journ. Chem.* 2016, 6(2), 7–14. Doi: 10.13171/mjc61/016111516/kormosh.
22. Kormosh Zh.A., Savchuk T.I., Bazel Ya.R., Kormosh N., Zyma S. Potentiometric sensor for the determination of povidone-iodine. *Anal. Bioanal. Electrochem.* 2014, 6(3), 367–378. http://abechem.ir/No.%203-2014/2014,6_3_367-378.pdf.
23. Antal I., Kormosh Z., Bazel Y., Lysenko S., Kormosh N. Design of a Vitamin B₁-Selective Electrode Based on an Ion-Pair and Its Application to Pharmaceutical Analysis. *Electroanalysis*. 2010, 22(22), 2714–2719. Doi: 10.1002/elan.201000124.
24. Zubenya N., Kormosh Zh., Semenyshyn D., Kochubei V., Kormosh A. Design of a Gramine-Selective Membrane Sensor. *Anal. Bioanal. Electrochem.* 2018, 10(5), 531–540. [http://abechem.ir/No.%205-2018/2018,%2010\(5\),%20531-540.pdf](http://abechem.ir/No.%205-2018/2018,%2010(5),%20531-540.pdf).
25. Kormosh Z.A., Markovska N.A., Kormosh N.N. Potentiometric Sensor for Benzylpenicillin Determination. *Pharm. Chem. J.* 2019, 53, 577–579. Doi: 10.1007/s11094-019-02040-w.
26. Khaled E., Kamel M.S. Cyclodextrin-Based Potentiometric Sensors for Metformin. *Sensing in Electroanalysis* (K. Kalcher, R. Metelka, I. Švancara, K. Vytras; Eds.). 2011. University Press Centre, Pardubice, 323–335. https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/42526/KhaledE_Cyclodextrin-Based_2011.pdf?sequence=1.
27. Elmorsy K., Hassan H., Manal K., Barsoum B. Novel Metformin Carbon Paste and PVC Electrodes. *Current Pharm. Anal.* 2007, 3, 262–267. Doi: 10.2174/157341207782418776.
28. Khaled E., Kamel M.S., Hassan H.N., Abd El-Alim Sameh H., Aboul-Enein H.Y. Miniaturized ionophore-based potentiometric sensors for the flow-injection determination of metformin in pharmaceutical formulations and biological fluids. *Analyst*. 2012, 23(137), 5680–5687. Doi: 10.1039/C2AN35696A.