

## Les peptides natriurétiques : aspects biologiques et intérêt diagnostique en pathologie cardiaque

Garaali N<sup>1,3</sup>, Filali S<sup>1,3</sup>, Boukhrissi F<sup>2,3</sup>, Mahmoud M<sup>1,3,\*</sup>, Benbella I<sup>1,3</sup>.

1-Unité de biochimie, laboratoire centrale d'analyses médicales, CHU Hassan II, Fès.

2-Service de biochimie, hôpital militaire Moulay Ismail, Meknès.

3-Faculté de Médecine et de pharmacie de Fès, université sidi Mohamed ben Abdallah, Fès.

\*-Chef d'unité de biochimie, chef du laboratoire centrale d'analyses médicales, CHU Hassan II, Fès.

---

### Résumé :

L'insuffisance cardiaque (IC), quelque soit son étiologie, est un motif fréquent de consultation aux urgences. Les peptides natriurétiques, à savoir ANP, BNP et CNP, sont des peptides sécrétés par les cardiomyocytes lorsqu'il existe une mise en tension de la paroi du ventricule. L'ANP et le BNP jouent un rôle fondamental dans l'homéostasie cardiovasculaire par la modulation de l'équilibre hydro-électrolytique et du tonus vasculaire. Actuellement, le BNP est considéré comme le biomarqueur le plus fiable pour le diagnostic de l'IC. Ce dernier a une activité natriurétique, diurétique et vasodilatatrice, contrairement au NT-proBNP qui grâce à ses performances en termes de sensibilité et de stabilité, semble légèrement plus important que le BNP dans le diagnostic de l'IC. Le dosage précoce des peptides natriurétiques aux urgences devrait améliorer la prise en charge des patients et permettrait de réduire les coûts liés à l'hospitalisation et le risque de décès.

Un rôle clé de la CNP dans la régulation de la fonction cardiaque et vasculaire a lentement émergé depuis son identification. À mesure que notre compréhension de ses rôles cardioprotecteurs se développe, le CNP trouvera une place importante dans le traitement des maladies cardiovasculaires.

**Mot clés :** insuffisance cardiaque, peptides natriurétiques, ANP, CNP, BNP, NT-proBNP,

---

Date of Submission: 29-04-2021

Date of Acceptance: 13-05-2021

---

### I. Introduction :

L'insuffisance cardiaque aiguë est la première cause de dyspnées aiguë et d'hospitalisation des sujets âgés [1]. Son pronostic est sévère avec une mortalité hospitalière relativement élevée chez les sujets âgés de plus de 70 ans [1]. Par ailleurs, le diagnostic de l'insuffisance cardiaque est parfois difficile. En effet, d'une part les examens complémentaires ne sont pas toujours pertinents et l'échodoppler est rarement réalisé en urgence encore moins chez les sujets âgés et d'autre part le diagnostic étiologique de la dyspnée est plus difficile chez les sujets âgés [1].

La découverte des peptides natriurétique et l'intégration de leur dosage en routine par les services de cardiologie et d'urgence a constitué un tournant dans le diagnostic des insuffisances cardiaques [2]. En effet, ces peptides sont étroitement impliqués dans la régulation de l'homéostasie volémique, tensionnelle et hydroélectrolytique. Par ailleurs, ils représentent un témoin de la fonction endocrine du cœur [3]. Synthétisés et stockés dans l'auricule cardiaque droit, ils sont sécrétés par les cardiomyocytes en réponse à un étirement de la paroi cardiaque [4]. Leur libération a pour conséquence une baisse de la tension artérielle provoquée par l'augmentation de la diurèse, de la natriurèse et une vasodilatation [4,5].

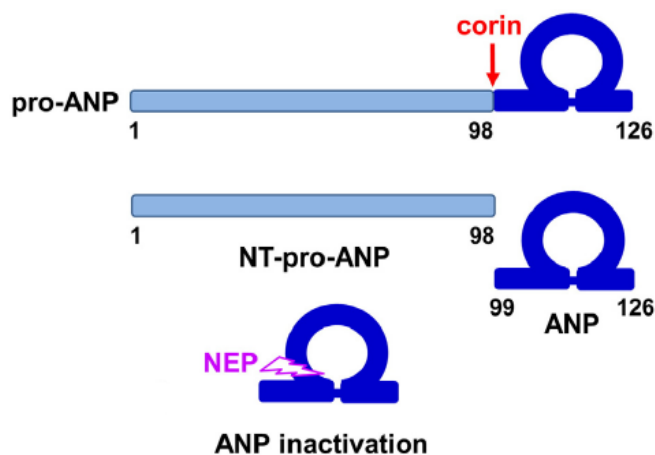
La mise en place et la commercialisation de dosage rapide des peptides natriurétique, réalisés au lit du malade et à grande sensibilité, a contribué à accroître leur intérêt en tant que marqueur de l'insuffisance cardiaque aiguë en urgence [1]. Notre travail vise à présenter un état des lieux des données de la littérature à propos des peptides natriurétique et de l'intérêt de leur dosage.

### Physiologie des peptides natriurétiques :

De nos jours, on compte une dizaine de facteurs natriurétiques (ANP, BNP, CNP, DNP, peptide natriurétique de type V [VNP], urodilatine, etc...). Le premier à être identifié est l'ANP et ce en 1983. [3]

L'ANP est synthétisé au niveau cardiaque par les oreillettes sous forme de pré-pro-ANP[6-8]. Lorsque les cellules sont stimulées par étirement de la paroi cardiaque, le Pro-ANP stocké dans les granules des cardiomyocytes est converti en ANP actif par une protéase ancrée à la surface cellulaire : la Corine (Figure 1)[6]. La dégradation de l'ANP est quant à elle assurée par une endopeptidase neutre (NEP), également appelée néprilysine, qui inhibe l'ANP à Cys-105 ↓ Phe-106 et d'autres sites[6,9]. L'inhibition de la néprilysine augmente les taux d'ANP[9]. Chez les patients atteints d'insuffisance cardiaque (IC), l'inhibition combinée des récepteurs

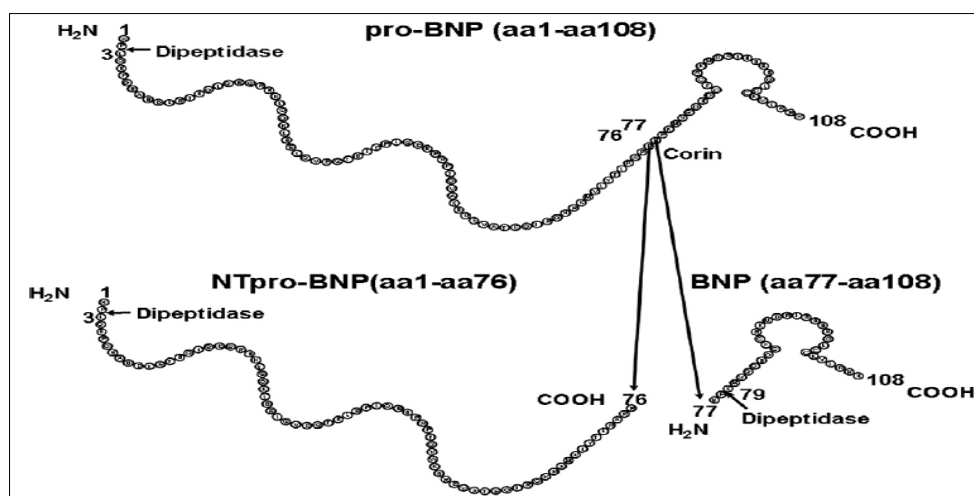
de la néprilysine et de l'angiotensine représente une nouvelle perspective thérapeutique pour diminuer la mortalité et la morbidité[6].



*Figure 1* :Métabolisme des ANP [6]

Tout comme l'ANP, le Pré-proBNP est synthétisé au niveau cardiaque. Sa transformation en proBNP est également liée à la Corine. En effet, il est clivé en BNP actif et en N-terminal proBNP (NT-proBNP) inactif(**Figure 2**)[2,10,11]. Chaque fragment subit une autre digestion par une dipeptidase en N-terminale[11]. La demi-vie du BNP est plus courte (environ 20 min) que celle du NT-proBNP (90 min) dont la clairance est uniquement rénale[2,11]. Ces hormones peptidiques se lient à un récepteur membranaire à activité guanylyl cyclase intrinsèque, appelé GCA (guanylyl cyclase receptor A)[12]. Cette liaison active une protéine kinase GMPc-dépendante (PKG) pour contrôler divers processus biologiques[5,12]. L'ANP et le BNP se lient également, avec une moindre affinité, à un récepteur de clairance appelé NPRC (natriuretic peptide receptor C). Ce dernier permettra d'internaliser et d'inactiver ces peptides[5,6].

Ces deux peptides sont codés par des gènes issus d'un gène ancestral et sont essentiellement exprimés dans les cellules cardiaques[6,9]. Ainsi le gène NPPA, codant pour l'ANP, se trouve sur le chromosome 1 (1p36.21). Tant dis que le gène NPPB, codant pour le BNP, est situé en amont du gène NPPA. Notons qu'un équilibre entre l'expression génique, la sécrétion de protéines et la clairance est nécessaire pour atteindre le niveau optimal d'ANP[12]. À cet effet, la régulation génique joue un rôle important [6,12]. En effet, plusieurs études montrent l'implication des mécanismes dits épigénétiques dans l'inhibition ou l'activation de leur expression[12]. Ainsi les modifications d'histones, la méthylation de l'ADN et les micros ARN, participent à la régulation de la transcription du gène NPPA. Par ailleurs, des modifications des histones du gène NPPB ont été corrélées à plusieurs cardiomyopathies[12]. Une meilleure connaissance des mécanismes épigénétiques permettra de mieux comprendre la base physiopathologique de ces cardiopathies et d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques[12].



*Figure 2* :Biosynthèse du BNP[11]

Quant au pro-CNP, ce dernier se compose de 103acides aminés et est transformé par la furine, une endoprotéase intracellulaire, en CNP 53-AA mature et en NT-pro CNP(figure 3). Le CNP-53, exprimé principalement dans le cerveau, le cœur et les cellules endothéliales, est clivé en CNP-22 (forme active) et en NT-CNP53 (forme inactive).

Le CNP est peu sécrété dans le plasma où sa concentration est extrêmement basse[14,13]. Ses effets rénaux n'ont pas été clairement définis, bien que l'on pense que le CNP n'est pas natriurétique à des concentrations physiologiques[13]. Dans des études expérimentales, la perfusion de CNP a provoqué des augmentations de l'ANP plasmatique et une diminution significative de l'aldostérone, par rapport à la perfusion d'un placebo[13]. Aucune natriurèse ou réponse vaso-dépressive n'a été observée[13].

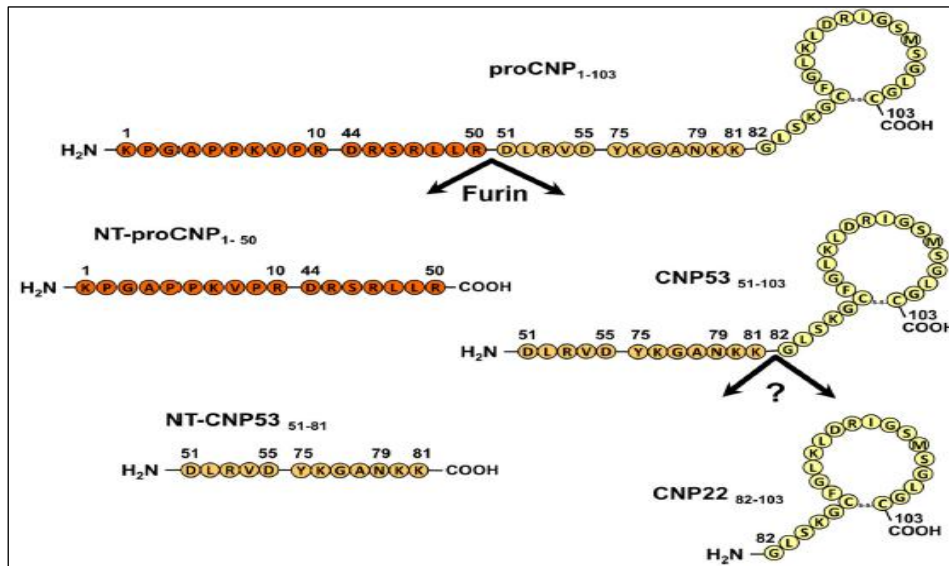


Figure 3 :Métabolisme du peptide natriurétique de type C (CNP)[3]

Les peptides natriurétiques ont tous un rôle plus ou moins important dans l'homéostasie du sodium et la régulation de la volémie[1,15–17]. Le BNP permet de contrebalancer l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA), lorsqu'il existe une mise en tension de la paroi du ventricule gauche[1,11]. Il permet également une relaxation vasculaire, diminue les taux d'angiotensine, d'endothéline-1 et d'aldostérone, et augmente l'excrétion rénale du sodium. Ce qui lui donne une action natriurétique, diurétique et vasodilatatrice[1].

À l'inverse du BNP, le NT-proBNP n'a aucune activité physiologique[1,11,17,18]. Son taux plasmatique est de cinq à dix fois plus important que le BNP[1].

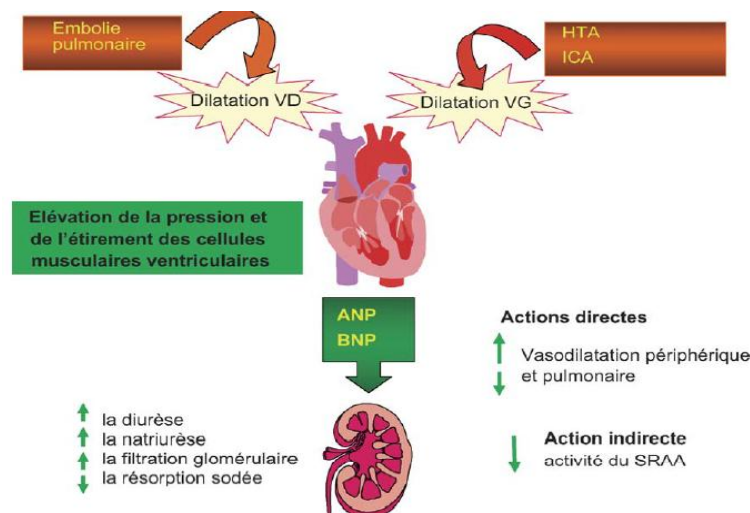


Figure 4 :Mode d'action des facteurs natriurétiques peptides A et B[1].

\*SRAA : système rénine-angiotensine-aldostérone ; ICA : insuffisance cardiaque aiguë ; HTA : hypertension artérielle

### **Méthodes de dosage et facteurs les influençant**

Le dosage des peptides natriurétiques doit être effectué à jeun en évitant la prise ultérieure de médicament pouvant augmenter la concentration plasmatique de ces derniers. En effet, le nésirétide (rhBNP) entraîne une augmentation de la concentration du BNP.

Les concentrations plasmatiques d'ANP et de BNP sont mesurables par radio-immunologie, fluoro-immunologie ou enzymo-immunologie, par méthode « sandwich » à double anticorps ou méthode par compétition précédée d'une extraction sur colonne de silice. La technique immuno-enzymatique est développée et commercialisée par plusieurs sociétés [5,11]. Cette technique permet d'obtenir le dosage plasmatique du BNP en moins de 20 minutes, à partir de 200 µl de plasma utilisant l'EDTA non hémolysé [1]. La congélation de l'échantillon (inférieures à -18°C) doit avoir lieu dans les 4 heures suivant le prélèvement[19]. Les valeurs normales sont comprises entre 5 et 5000ng/L, avec un coefficient de variation (CV) de 10–13%[1].

Le dosage du NT-proBNP est obtenu en 20 minutes à partir de 200 µl de plasma ou du sérum [1]. Le NT-proBNP subit moins de dégradation in vitro et in vivo et présente des concentrations circulantes plus élevées et plus stables que le BNP [11]. La température de conservation est comprise entre +2°C et +8°C[19]. Plusieurs études récentes favorisent les dosages du NTproBNP. En effet ce dernier a une durée d'analyse d'une demi-heure avec une sensibilité et une précision supérieure à celle des tests BNP[11]. De plus ses réactifs sont stables avec des valeurs normales comprises entre 5 et 35 000 ng/L[1]. Par ailleurs, des interférences sont possibles chez les patients traités par la biotine ou sous complément alimentaire contenant de la biotine. Par conséquent, un arrêt du traitement 8 jours avant le prélèvement est obligatoire.

Plusieurs conditions viennent influencer les valeurs de BNP et NTproBNP[1,11]. Ainsi une corrélation positive entre l'élévation de BNP et NT pro BNP et l'âge a été rapportée dans la littérature[1,10,11]. Cette élévation serait due à l'installation d'une hypertrophie ventriculaire gauche liée à l'âge, avec une augmentation de la masse myocardique et une réduction de la clairance rénale du NTproBNP et BNP[11].

D'autre part, des variations liées au sexe ont également été constatées notamment une augmentation des taux de NT pro BNP/BNP chez la femme. Néanmoins, la cause reste inexpliquée et serait probablement due à l'effet des hormones sexuelles sur l'expression des gènes de ces peptides[11].

Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les taux de NT proBNP /BNP étaient inversement proportionnels à l'indice de masse corporelle (IMC). En effet, une étude réalisée par J.Steiner et al a montré que les sujets obèses présentaient des taux plasmatiques de NT pro BNP/BNP inférieurs de 63% par rapport aux sujets non obèses [11]. Cette baisse peut être expliquée par l'abondance des récepteurs des peptides natriurétiques au sein du tissu adipeux[1,11]. En dehors de l'IC, d'autres pathologies comme le syndrome coronarien aigu(SCA), l'insuffisance ventriculaire, l'hypertension artérielle et le choc septique sont responsables d'une élévation du BNP : [1,11,16,18,20].

### **Valeur diagnostic et pronostic**

Actuellement, BNP et NTproBNP représentent les principaux peptides utilisés dans l'exploration des pathologies cardiaques. En effet, les dernières recommandations de l'ACCF/AHA(American College of Cardiology Foundation / American Heart Association) et de l'ESC (European Society of Cardiology), placent le BNP et le NT-proBNP comme les biomarqueurs les plus fiables pour le diagnostic de l'IC [21]. Ils sont également responsables de la détermination de la gravité et de l'évaluation du pronostic des maladies cardiaques[9,10,19,21].

### **Valeur diagnostic**

Le dosage des BNP et le NT-proBNP est utile chez des patients insuffisants cardiaques ayant des symptômes peu spécifiques tel qu'une dyspnée[11,20,22,23]. Leur intérêt réside dans leur excellente valeur prédictive autant négative que positive[10,11]. En effet, un taux de BNP inférieur à 100 ng/L (ou un NT-proBNP < 300 ng/L) permet d'exclure le diagnostic d'IC (valeur prédictive négative de 98 %)[10]. En revanche, un taux de BNP supérieur à 400 ng/L (ou le NT-proBNP > 450-1 800 ng/L selon l'âge) a une forte valeur prédictive positive d'IC [8,10,17]. Entre ces deux valeurs s'étend une zone grise dans laquelle le diagnostic d'une IC est improbable[10]. Le tableau 1 résume les valeurs seuils pour l'interprétation de ces marqueurs.

**Tableau 1 : les valeurs seuils du BNP et NT-proBNP [10,21]**

	<b>Seuil d'exclusion d'insuffisance cardiaque</b>	<b>Zone grise</b>	<b>Forte probabilité d'insuffisance cardiaque</b>
<b>BNP (ng/L)</b>	< 100	100-400	> 400
<b>NT-proBNP (ng/L)</b>	< 300	300-450 (< 50 ans) 300-900 (50 à 75 ans) 300-1 800 (> 75 ans)	> 450 (< 50 ans) > 900 (50-75 ans) > 1 800 (> 75 ans)

Le NT-proBNP pourrait être supérieur dans le diagnostic de l'IC diastolique[11,24]. En effet, une étude réalisée par O'Donoghue et al a montré que le NT-proBNP est mieux corrélé et plus sensible à la gravité de l'IC que le BNP. Ce dernier est faussement négatif chez 20% des sujets atteints d'IC diastolique, contre seulement 9% pour le NT-proBNP[24]. Une autre étude, a démontré que le test NT-proBNP est fortement recommandé pour le suivi du traitement de l'IC vu sa grande précision[11]. D'autres part, certains praticiens favorisent le NT-proBNP en diagnostique car il reste élevé en moyenne pendant 12 semaines [21].

### **Valeur pronostic**

Le BNP et le NT-proBNP ont non seulement une grande importance dans le diagnostic de l'IC, mais ont également une valeur pronostic[1,9,11,21]. En effet, la majorité des études ont montré qu'une augmentation progressive des concentrations plasmatiques du BNP et du NT pro BNP sont corrélées à la gravité de l'IC[1,21]. De même la réduction de ces taux serait associée à une amélioration des symptômes cliniques[11,21]. Le BNP et le NT-proBNP sont également utilisés pour guider la prise en charge, ajuster la stratégie thérapeutique et déterminer l'efficacité thérapeutique [21]. Toutefois, leur élévation ne constitue pas une indication pour la modification du traitement. En effet, L'HAS (Haute Autorité de Santé) ne recommande pas le dosage du BNP pour adapter le traitement de l'insuffisance cardiaque en médecine ambulatoire [10,27].

Compte tenu des différences physiologiques et analytiques entre le BNP et le NTproBNP, il est important de toujours prescrire dans le cadre du suivi thérapeutique, le même peptide à doser

dans le même laboratoire (même analyseur) et dans les plus brefs délais après le prélèvement[27].

L'amplitude de l'augmentation du BNP/NT-proBNP constitue un marqueur de mauvais pronostic pour les syndromes coronariens aigus. En effet, la concentration du BNP ou du NT-proBNP s'élève dans les syndromes coronariens aigus en 24 heures après l'apparition des symptômes et revient à la normale en 4 à 5 semaines. D'autres part, elle permet d'identifier des patients à risque de dysfonction ventriculaire gauche et de décès, indépendamment de l'âge et des antécédents cardiovasculaires (risque majoré si BNP > 80 pg/mL)[10].

## **II. Conclusion**

Bien que l'ANF soit le premier facteur natriurétique à être découvert, il se voit surpasser par d'autres facteurs natriurétiques, à savoir le BNP et le NTpro BNP, dans le diagnostic de multiples pathologies cardiovasculaires. Ainsi, un dosage rapide du BNP ou du NT-proBNP devrait être accessible 24 heures sur 24 en urgence afin d'améliorer la morbidité en diagnostiquant dans les plus brefs délais une IC ou un dysfonctionnement asymptomatique du VG. Le CNB quant à lui reste du domaine de la recherche, avec plusieurs hypothèses émises expliquant son rôle dans certaines pathologies cardiaques, et un nombre croissant d'études réalisées sur le sujet.

## **Références**

- [1] P. Ray, Y. Lefort, Intérêt du dosage des peptides natriurétiques en urgence Usefulness of B-type natriuretic peptide in emergency medicine, 27 (2006) 858–864. doi:10.1016/j.revmed.2006.06.006.
- [2] G. Jean, P. Deleaval, C. Chazot, ScienceDirect *tiques en dialyse : de la théorie à la pratique Les peptides natriure Natriuretic peptides in dialysis : From theory to clinical practice.* (2020). doi:10.1016/j.nephro.2019.08.003.
- [3] L.R. Potter, et al. Natriuretic Peptides: Their Structures, Receptors, Physiologic Functions and Therapeutic Applications. *Handb Exp Pharmacol.* 2009; (191): 341-366.
- [4] A.J. de Bold, H.B. Borenstein, A.T. Veress, H. Sonnenberg, A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats, *Life Sci.* 28 (1981) 89–94. doi:10.1016/0024-3205(81)90370-2.
- [5] U.P. Sabatier, Dossier thématique Les peptides natriurétiques : une cible potentielle dans le diabète de type 2 ?, *Médecine Mal. Métaboliques.* 13 (2019) 328–330. doi:10.1016/S1957-2557(19)30091-4.
- [6] W. Song, H. Wang, Q. Wu, Atrial natriuretic peptide in cardiovascular biology and disease (NPPA), *Gene.* 569 (2015) 1–6. doi:10.1016/j.gene.2015.06.029.
- [7] A. Mebazaa, D. Payen, The atrial natriuretic peptide in man | Le facteur atrial natriurétique chez l'homme, *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* 10 (1991) 179–190. doi:10.1016/S0750-7658(05)80465-4.
- [8] F.S. Davidovski, J.P. Goetze, ProANP and proBNP in plasma as biomarkers of heart failure, *Biomark. Med.* 13 (2019) 1129–1135. doi:10.2217/bmm-2019-0158.
- [9] R.A. Lewis, C. Durrington, R. Condliffe, D.G. Kiely, BNP/NT-probnp in pulmonary arterial hypertension: Time for point-of-care testing?, *Eur. Respir. Rev.* 29 (2020). doi:10.1183/16000617.0009-2020.
- [10] 250 Examens de Laboratoire, 250 Examens Lab. (2019). doi:10.1016/c2018-0-00963-9.
- [11] J. Steiner, M. Guglin, BNP or NTproBNP ? A clinician perspective, 129 (2008) 5–14. doi:10.1016/j.ijcard.2007.12.093.
- [12] S. Rubattu, R. Stanzione, M. Cotugno, F. Bianchi, S. Marchitti, M. Forte, Epigenetic control of natriuretic peptides: implications for health and disease, *Cell. Mol. Life Sci.* 77 (2020) 5121–5130. doi:10.1007/s00018-020-03573-0.
- [13] S. V The, A. Natriuretic, Section V. The Atrial Natriuretic Peptides, (n.d.). doi:10.1016/B978-0-12-373870-7.00020-X.
- [14] R. Zakeri, NIH Public Access, (2013). doi:10.1016/j.jchf.2012.12.003.
- [15] J. Steiner, M. Guglin, BNP or NTproBNP? A clinician's perspective, *Int. J. Cardiol.* 129 (2008) 5–14. doi:10.1016/j.ijcard.2007.12.093.
- [16] M.A. Silver, A. Maisel, C.W. Yancy, P.A. McCullough, J.C. Burnett, G.S. Francis, M.R. Mehra, W.F. Peacock, G. Fonarow, W.B. Gibler, D.A. Morrow, J. Hollander, BNP Consensus Panel 2004: A clinical approach for the diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptides in cardiovascular diseases., *Congest. Heart Fail.* 10 (2004) 1–30. doi:10.1111/j.1527-5299.2004.03271.x.

- [17] P.L. Santaguida, A.C. Don-Wauchope, M. Oremus, R. McKelvie, U. Ali, S.A. Hill, C. Balion, R.A. Booth, J.A. Brown, A. Bustamam, N. Sohel, P. Raina, BNP and NT-proBNP as prognostic markers in persons with acute decompensated heart failure: A systematic review, *Heart Fail. Rev.* 19 (2014) 453–470. doi:10.1007/s10741-014-9442-y.
- [18] G.C.M. Linssen, T. Jaarsma, H.L. Hillege, A.A. Voors, D.J. van Veldhuisen, A comparison of the prognostic value of BNP versus NT-proBNP after hospitalisation for heart failure, *Netherlands Hear. J.* 26 (2018) 486–492. doi:10.1007/s12471-018-1145-x.
- [19] N. Valli, A. Georges, A.M. Plogin, J. Barat, L. Bordenave, Évolution du facteur natriurétique de type B après resynchronisation biventriculaire chez les patients présentant une insuffisance cardiaque sévère Effect of biventricular pacing on brain natriuretic peptide (BNP) in patient with dilated cardiomyopathy, 17 (2002) 382–386.
- [20] G. Jean, P. Deleaval, C. Chazot, Natriuretic peptides in dialysis: From theory to clinical practice, *Nephrol. Ther.* (2020). doi:10.1016/j.nephro.2019.08.003.
- [21] Z. Cao, Y. Jia, B. Zhu, BNP and NT-proBNP as diagnostic biomarkers for cardiac dysfunction in both clinical and forensic medicine, *Int. J. Mol. Sci.* 20 (2019) 18–20. doi:10.3390/ijms20081820.
- [22] J.G. Lainchbury, E. Campbell, C.M. Frampton, T.G. Yandle, M.G. Nicholls, A.M. Richards, Brain natriuretic peptide and N-terminal brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure in patients with acute shortness of breath, *J. Am. Coll. Cardiol.* 42 (2003) 728–735. doi:10.1016/S0735-1097(03)00787-3.
- [23] P. Ray, Y. Lefort, Intérêt du dosage des peptides natriurétiques en urgence, *Rev. Med. Interne.* 27 (2006) 858–864. doi:10.1016/j.revmed.2006.06.006.
- [24] M.R. Mehra, W. Franklin, P. Iv, BNP Consensus Panel 2004 : A Clinical Approach for the Treatment Monitoring , and Therapeutic Roles of Natriuretic Peptides in Cardiovascular Diseases, 10 (2004).
- [25] T.M.S. Hershey, S. Assembly, R.C. Wuerz, S.A. Meador, E f f e c t s of Prehospital Medications on Mortality and Length of Stay in Congestive Heart Failure, (1991) 669–674.
- [26] J.G. Lainchbury, E. Campbell, B.S.C.H. Ons, C.M. Frampton, T.G. Yandle, M.G. Nicholls, A.M. Richards, Brain Natriuretic Peptide and N-Terminal Brain Natriuretic Peptide in the Diagnosis of Heart Failure in Patients With Acute Shortness of Breath, 42 (2003). doi:10.1016/S0735-1097(03)00787-3.
- [27] B.N.P. Nt-probnp, Insuffisance cardiaque : les peptides natriurétiques en médecineambulatoire, (n.d.).

Garaali N, et. al. "Les peptides natriurétiques : aspects biologiques et intérêt diagnostic en pathologie cardiaque." *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*, 16(3), (2021): pp. 19-24.