بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

تهیه زیست حسگرهای جدید بر پایه DNA جهت آنالیز ترکیبات مهم دارویی و بکارگیری نانوساختارها به منظور بررسی تخریب DNA و مطالعه رهش دارو از نانوذرات درمانی

رساله دکتری شیمی تجزیه

اسماعیل حیدری بفروئی

استاد راهنما

پروفسور علی اصغر انصافی

۱۳۹۲

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده شیمی

تعهد نامه اصالت رساله یا پایان نامه تحصیلی

اینجانب اسماعیل حیدری بفروئی دانش آموخته مقطع دکتری تخصصی در رشته شیمی تجزیه کـه در تاریخ ۹۲/۶/۲۵ از رساله خود تحت عنوان " تهیه زیست حسگرهای جدید بر پایه DNA جهت آنالیز ترکیبات مهم دارویی و بکارگیری نانوساختارها به منظور بررسی تخریب DNA و مطالعه رهش دارو از نانوذرات درمانی" دفاع نموده ام بدینوسیله متعهد می‌شوم :

۱) **این رساله حاصل تحقیق و پژوهش انجام شده توسط اینجانب بوده و در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران (اعم از پایان نامه، کتاب، مقاله و ...) استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و رویه موجود، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آنرا در فهرست مربوطه ذکر و درج کرده‌ام.**

۲) **این رساله قبلاً برای دریافت هیچ مدرک تحصیلی (هم سطح، پایین تر یا بالاتر) در سایر دانشگاهها و موسسات آموزش عالی ارائه نشده است.**

۳) **چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده و هرگونه بهره برداری اعم از چاپ کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان نامه یا رساله را داشته باشم، از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان، مجوزهای مربوطه را اخذ نمایم.**

۴) **چنانچه در هر مقطع زمانی خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن را می‌پذیرم و دانشگاه صنعتی اصفهان مجاز است با اینجانب مطابق ضوابط و مقررات رفتار نموده و در صورت ابطال مدرک تحصیلی‌ام هیچگونه ادعایی نخواهم داشت.**

نام و نام خانوادگی:اسماعیل حیدری بفروئی

تاریخ و امضاء: ۹۲/۶/۲۵

الهی دانایی ده که در راه نیفتم و بینایی ده که در چاه نیفتم...

ستایش خدای را که به ید لطف بی منتهایش، روزیم را چشمه زلال علم و حکمت مقرر نمود و نیک اندیشان عرصه دانش را راهبرم گردانید. پس بر من است، که به تقدیر زحمات بزرگان علم و حکمت زبان شکرگشایم.

سپاس بیکران از تلاشها و رهنمودهای استاد ارجمند و بزرگوارم جناب آقای پروفسور علی اصغر انصافی که اندیشمندانه و صمیمانه مرا در طول زمان انجام این رساله راهنمایی و حمایت نمودند.

از استاد بزرگوارم جناب آقای پروفسور رضایی، که مشاور اینجانب در پیشبرد اهداف این رساله بودند، نهایت تقدیر و تشکر را دارم.

از اساتید داور جناب آقای پروفسور مرتضی طالبی، جناب آقای پروفسور سید حسن قاضی عسکر و جناب آقای دکتر محمد سراجی که زحمت مطالعه و داوری این رساله را متقبل شدند سپاسگزارم.

از پدر و مادر بزرگوار و مهربانم که در پناه مهر، محبت و حمایت های آنها مسیر زندگیم هموار و موفقیت هایم دست یافتنی گشت بی نهایت سپاسگزارم.

از خواهرها و برادرهای مهربانم که کوچک ترین موفقیت هایم را ستودند و همواره مشوق من بوده اند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از دوستان خوبم که همیشه در خاطرم خواهند ماند آقای دکتر بهمن فرجمند و خانم ها مریم امینی و ملیحه ابراهیمی به پاس لطف و صمیمیت بی پایانشان سپاسگزارم.

اسماعیل حیدری بفروئی

شهریور ۱۳۹۲

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزم که سرچشمه لطف و محبت

ایزدیکتا در تمام مراحل زندگی و تحصیلم بودند

تقدیم به:

خواهرها و برادرهای عزیز و مهربانم

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب ..... هشت
فهرست جدول‌ها ..... سیزده
فهرست شکل‌ها ..... شانزده
چکیده ۱

فصل اول: تئوری

۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- ساختار DNA ۴
۱-۳- زیست‌حسگرهای DNA ۶
۱-۳-۱ زیست‌حسگرهای نوری DNA ۶
۱-۳-۲ زیست‌حسگرهای جرمی DNA ۶
۱-۳-۳ زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی DNA ۷
۱-۴- الکتروشیمی نوکلئیک اسیدها ۸
۱-۴-۱ روش‌های الکتروشیمیایی و الکترودها ۸
۱-۴-۲ اکسایش و کاهش نوکلئیک اسیدها ۹
۱-۵- تثبیت DNA بر روی مواد کربنی ۱۱
۱-۵-۱ جذب ۱۲
۱-۵-۲ الکترودهای کربنی اصلاح شده‌ی سطحی توسط پلیمرها برای جذب DNA ۱۴
۱-۵-۳ الکترودهای کربنی اصلاح شده توسط نانوذرات برای جذب DNA ۱۵
۱-۶- نانولوله‌های کربنی ۱۶
۱-۶-۱ ساختار نانولوله‌های کربنی ۱۷
۱-۶-۲ خواص نانولوله‌های کربنی ۱۸
۱-۶-۳ اهمیت استفاده از نانوتکنولوژی در الکتروشیمی ۱۹
۱-۷- روش‌های تجزیه الکتروشیمیایی ۲۱
۱-۷-۱ مقدمه ۲۱
۱-۷-۲ تجزیه با عاری‌سازی ۲۳
۱-۷-۳ - طیف‌نگاری امپدانس الکتروشیمیایی ۲۴

فصل دوم: اهمیت و کاربردها

۲-۱- بر همکنش DNA و دارو و اهمیت مطالعه آن ۲۷
۲-۱-۱ مروری بر مطالعات برهمکنش DNA با دارو ۲۹

۲-۲- ریبوفلاوین ۳۳
۲-۲-۱ مروری بر کارهای انجام شده در زمینه اندازه‌گیری ریبوفلاوین ۳۵
۲-۳- کدئین و مورفین ۳۷
۲-۳-۱ مروری بر مطالعات مورفین و کدئین ۳۸
۲-۴- تخریب DNA ۴۱
۲-۴-۱ سیستم های دفاعی دربرابر رادیکال های آزاد ۴۱
۲-۴-۲ نقش آنتی اکسیدانها در جلوگیری از آسیب سلولی رادیکال های آزاد ۴۱
۲-۴-۳ اثر تخریبی سولفیت ۴۲
۲-۵- دوکسوروبیسین ۴۳
۲-۵-۱ دوکسوروبیسین لیپوزومی ۴۴
۲-۵-۲ اندازه‌گیری سینتیک رهش دارو ۴۵

فصل سوم: بخش تجربی

۳-۱- مقدمه ۴۷
۳-۲- وسایل و ابزار مورد استفاده ۴۸
۳-۳- نرم‌افزارهای مورد استفاده ۴۹
۳-۴- واکنشگرها ۴۹
۳-۴-۱ تهیه محلول بافر تریس ۴۹
۳-۴-۲ تهیه محلول بافر استاتی ۴۹
۳-۴-۳ تهیه محلول بافر فسفات ۵۰
۳-۴-۴ تهیه محلول مادر ریبوفلاوین، کدئین، مورفین، دوکسوروبیسین و سولفیت ۵۰
۳-۴-۵ تهیه محلول مادر DNA ۵۰
۳-۴-۶ آماده‌سازی نانوله‌های کربنی چند دیواره ۵۰
۳-۵- ساخت زیست‌حسگر DNA جهت بررسی برهمکنش ریبوفلاوین با DNA و اندازه‌گیری آن از طریق روش ولتامتری پالس تفاضلی بر روی گرافیت مدادی ۵۱
۳-۵-۱ ساخت الکترود گرافیت مدادی ۵۱
۳-۵-۲ ساخت الکترود PGE اصلاح شده ۵۱
۳-۵-۳ مطالعات اولیه برهمکنش dsDNA با ریبوفلاوین با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی ۵۲
۳-۵-۴ مطالعات برهمکنش dsDNA با ریبوفلاوین با استفاده از روش UV-Vis ۵۴
۳-۵-۵ بهینه سازی عوامل مؤثر بر حساسیت روش ۵۵
۳-۵-۶ انتخاب pH ۵۶
۳-۵-۷ اثر غلظت dsDNA در مرحله تثبیت بر روی الکترود PGE ۵۶

۳-۵-۸ اثر پتانسیل جذب در مرحله تثبیت dsDNA بر روی سطح الکترود PGE ۵۸
۳-۵-۹ اثر زمان جذب در مرحله تثبیت dsDNA بر روی سطح الکترود PGE ۵۸
۳-۵-۱۰ اثر زمان برهمکنش dsDNA با ریبوفلاوین ۶۰
۳-۵-۱۱ روش پیشنهادی ۶۱
۳-۵-۱۲ منحنی تنظیم ۶۲
۳-۵-۱۳ دقت و حد تشخیص روش ۶۳
۳-۵-۱۴ اثر مزاحمتهای احتمالی ۶۴
۳-۵-۱۵ کاربردها ۶۵
۳-۵-۱۶ بحث و نتیجه‌گیری ۶۶
۳-۶- اندازه‌گیری ریبوفلاوین به روش ولتامتری عاری‌سازی جذبی پالس تفاضلی با استفاده از الکترود گرافیت مداد پیش فعال شده ۷۰
۳-۶-۱ آماده سازی الکترود گرافیت مداد پیش فعال شده ۷۰
۳-۶-۲ روش کار ۷۰
۳-۶-۳ مطالعات اولیه ۷۰
۳-۶-۴ بهینه‌سازی و ارزیابی اثر pH محلول بر روی جریان و پتانسیل پیک ها ۷۱
۳-۶-۵ اثر پتانسیل و زمان جذب ۷۳
۳-۶-۶ رسم منحنی تنظیم ۷۴
۳-۶-۷ دقت و حد تشخیص روش ۷۴
۳-۶-۸ اثر مزاحمتهای احتمالی ۷۶
۳-۶-۹ کاربردها ۷۷
۳-۶-۱۰ بحث و نتیجه‌گیری ۷۸
۳-۷- ساخت زیست‌حسگر DNA جهت بررسی برهمکنش کدئین و مورفین با DNA و اندازه‌گیری همزمان آن‌ها از طریق روش ولتامتری پالس تفاضلی بر روی گرافیت مدادی ۸۱
۳-۷-۱ آماده‌سازی محلول MWCNTs ۸۱
۳-۷-۲ ساخت PGE ۸۱
۳-۷-۳ ساخت الکترود PGE اصلاح شده ۸۲
۳-۷-۴ بررسی تغییرات مورفولوژی سطح الکترود ۸۲
۳-۷-۵ مطالعه امپدانس الکتروشیمیایی و ولتامتری چرخه ای ۸۲
۳-۷-۶ مطالعات اولیه برهمکنش dsDNA با کدئین و مورفین با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی ۸۴
۳-۷-۷ مقایسه برهمکنش dsDNA و ssDNA با کدئین و مورفین ۸۶
۳-۷-۸ مطالعات برهمکنش dsDNA با کدئین و مورفین با استفاده از روش UV-Vis ۸۶

۳-۷-۹ مطالعات اولیه برهمکنش dsDNA جذب شده بر روی الکترود با کدئین و مورفین با استفاده از روش ولتامتری پالس تفاضلی ۸۸
۳-۷-۱۰ ثابت تعادل تجمعی و نسبت استوکیومتری ۹۰
۳-۷-۱۱ انتخاب pH ۹۰
۳-۷-۱۲ اثر غلظت dsDNA در مرحله تثبیت بر روی الکترود PGE ۹۱
۳-۷-۱۳ اثر زمان جذب در مرحله تثبیت dsDNA بر روی سطح الکترود PGE ۹۳
۳-۷-۱۴ ارزیابی اثر سرعت روبش پتانسیل ۹۵
۳-۷-۱۵ روش پیشنهادی ۹۶
۳-۷-۱۶ منحنی تنظیم ۹۶
۳-۷-۱۷ دقت و حد تشخیص روش ۹۷
۳-۷-۱۸ اثر مزاحمتهای احتمالی و آنالیز نمونه‌های حقیقی ۹۸
۳-۷-۱۹ بحث و نتیجه‌گیری ۹۹
۳-۸- ساخت زیست‌حسگر DNA جهت اندازه‌گیری الکتروکاتالیتیکی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ۱۰۶
۳-۸-۱ ساخت الکترود PGE اصلاح شده ۱۰۶
۳-۸-۲ روش کار ۱۰۶
۳-۸-۳ کاتالیز الکتروشیمیایی اکسایش NADH ۱۰۷
۳-۸-۴ تخریب DNA به وسیله محلول فنتون ۱۰۸
۳-۸-۵ تاثیر محلول فنتون بر روی کاتالیز الکتروشیمیایی اکسایش NADH ۱۱۰
۳-۸-۶ بهینه‌سازی غلظت Fe^{+2} ۱۱۱
۳-۸-۷ بهینه‌سازی زمان برهم‌کنش بین رادیکال‌های هیدروکسیل و DNA ۱۱۲
۳-۸-۸ روش پیشنهادی ۱۱۳
۳-۸-۹ منحنی تنظیم ۱۱۴
۳-۸-۱۰ دقت و حدتشخیص روش ۱۱۵
۳-۸-۱۱ تاثیر آنتی‌اکسیدان‌های دیگر ۱۱۶
۳-۸-۱۲ آنالیز نمونه‌های حقیقی ۱۱۷
۳-۸-۱۳ بحث و نتیجه‌گیری ۱۱۸
۳-۹- ساخت زیست‌حسگر DNA جهت بررسی مقایسه‌ای اثر کاتالیزوری فلزات واسطه بر روی اکسایش خود به خودی سولفیت ۱۲۰
۳-۹-۱ ساخت PGE ۱۲۰
۳-۹-۲ ساخت الکترود PGE اصلاح شده ۱۲۰
۳-۹-۳ بررسی تغییرات مورفولوژی سطح الکترود ۱۲۱

۳-۹-۴ مطالعه امپدانس الکتروشیمیایی و ولتامتری چرخه ای ۱۲۱
۳-۹-۵ روش کار ۱۲۳
۳-۹-۶ تاثیر یون سولفیت تنها بر روی DNA ۱۲۴
۳-۹-۷ تاثیر یون سولفیت در حضور فلزات واسطه بر روی DNA ۱۲۵
۳-۹-۸ تاثیر غلظت یون سولفیت بر روی تخریب DNA ۱۲۷
۳-۹-۹ تاثیر غلظت فلزات واسطه بر روی اثر DNA تخریبی سولفیت ۱۲۷
۳-۹-۱۰ اثر ماتریس‌های آبی متفاوت روی اثر DNA تخریبی سولفیت ۱۲۹
۳-۹-۱۱ بررسی نوع رادیکال‌های درگیر در فرایند اکسایش سولفیت در حضور فلزات واسطه ۱۳۱
۳-۹-۱۲ بحث و نتیجه‌گیری ۱۳۲
۳-۱۰- استفاده از آمپرومتری برای به‌دست آوردن پروفایل رهش دارو از نانوذرات درمانی ۱۳۷
۳-۱۰-۱ آماده‌سازی نانوله‌های کربنی چند دیواره ۱۳۷
۳-۱۰-۲ تهیه الکترود GCE اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی چند دیواره ۱۳۸
۳-۱۰-۳ الکتروشیمی دوکسوروبیسین ۱۳۸
۳-۱۰-۴ انتخاب پتانسیل اعمالی برای آمپرومتری ۱۳۹
۳-۱۰-۵ انتخاب پتانسیل زدایش ۱۴۰
۳-۱۰-۶ منحنی تنظیم و ارقام شایستگی ۱۴۲
۳-۱۰-۷ مطالعه رهش دوکسوروبیسین از لیپوزوم ۱۴۵
۳-۱۰-۸ مطالعه رهش دوکسوروبیسین از لیپوزوم در سرم ۱۴۷
۳-۱۰-۹ بحث و نتیجه‌گیری ۱۴۹
منابع و مراجع ۱۵۳

فهرست جدول‌ها

جدول (۳-۱) نتایج بررسی وابستگی سیگنال اکسایش آدنین و گوانین با غلظت dsDNA در طول مرحله تثبیت (n= ۱۰) .. ۵۷
جدول (۳-۲) نتایج بررسی اثر زمان تغلیظ dsDNA بر روی الکترود PGE (n= ۱۰) ۵۹
جدول (۳-۳) نتایج بررسی اثر زمان برهمکنش ریبوفلاوین با الکترود PGE اصلاح شده با dsDNA (n= ۱۰) ۶۰
جدول (۳-۴) نتایج بررسی منحنی کالیبراسیون ریبوفلاوین از طریق دنبال کردن سیگنال گوانین و آدنین ۶۳
جدول (۳-۵) انحراف استاندارد نسبی برای اندازه گیری ریبوفلاوین از طریق دنبال کردن سیگنال (a) گوانین و (b) آدنین ۶۴
جدول (۳-۶) بررسی اثر مزاحمتهای احتمالی در اندازه گیری ۴۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین از طریق دنبال کردن سیگنال گوانین ۶۵
جدول (۳-۷) نتایج اندازه‌گیری ریبوفلاوین در ادرار از طریق دنبال کردن سیگنال گوانین ۶۵
جدول (۳-۸) نتایج اندازه‌گیری ریبوفلاوین در نمونه قرص مولتی ویتامین ۶۷
جدول (۳-۹) مقایسه روش ارائه شده در اندازه گیری ریبوفلاوین در این پروژه با حساس‌ترین روش های الکتروشیمیایی گزارش شده ۶۷
جدول (۳-۱۰) بررسی تأثیر pH بر پتانسیل پیک آندی محلول ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین در شرایط: پتانسیل پیش‌تغلیظ مدار باز و زمان تغلیظ مساوی با ۵ دقیقه ۷۲
جدول (۳-۱۱) تأثیر پتانسیل و زمان پیش‌تغلیظ بر روی جریان اکسایش ۵/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین در pH=۷/۰ ۷۳
جدول (۳-۱۲) داده‌های منحنی درجه‌بندی پیک آندی اکسایش ریبوفلاوین در شرایط بهینه: pH=۷/۰، پتانسیل پیش‌تغلیظ ۱/۰۰- ولت و زمان تغلیظ مساوی با ۵ دقیقه ۷۵
جدول (۳-۱۳) ارقام شایستگی روش جهت اندازهگیری ریبوفلاوین بر سطح الکترود PPGE ۷۶
جدول (۳-۱۴) بررسی اثر مزاحمتهای احتمالی در اندازه‌گیری ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین ۷۶
جدول (۳-۱۵) نتایج اندازه‌گیری ریبوفلاوین در ادرار ۷۷
جدول (۳-۱۶) نتایج اندازه‌گیری ریبوفلاوین در نمونه قرص مولتی ویتامین ۷۸
جدول (۳-۱۷) تأثیر غلظت dsDNA در مرحله تثبیت بر روی جریان اکسایش ۳۰/۰ میکرو گرم بر میلی‌لیتر کدئین و مورفین پس از ۳۰۰ ثانیه تغلیظ بر روی الکترود dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE در محلول بافر فسفات pH= ۷/۰. ..... ۹۳
جدول (۳-۱۸) تأثیر زمان جذب dsDNA در مرحله تثبیت بر روی جریان اکسایش ۳۰/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کدئین و مورفین پس از ۳۰۰ ثانیه تغلیظ بر روی الکترود dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE در محلول بافر فسفات pH= ۷/۰. ..... ۹۴
جدول (۳-۱۹) داده های منحنی تنظیم اکسایش کدئین و مورفین در شرایط بهینه: pH=۷/۰، زمان تغلیظ مساوی با ۵ دقیقه و در شرایط مدار باز ۹۷
جدول (۳-۲۰) بررسی اثر مزاحمتهای احتمالی در اندازه گیری ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کدئین و مورفین از طریق دنبال کردن سیگنال اکسایش کدئین و مورفین ۹۹
جدول (۳-۲۱) اندازه گیری کدئین و مورفین در نمونه های دارویی، ادرار و خون با استفاده از روش ارائه شده و روش

استاندارد GC-MS (n=۴) ۱۰۰
جدول (۳-۲۲) مقایسه روش ارائه شده در اندازه گیری کدئین در این پروژه با سایر روش‌های الکتروشیمیایی گزارش شده ۱۰۱
جدول (۳-۲۳) مقایسه روش ارائه شده در اندازه گیری مورفین در این پروژه با سایر روش‌های الکتروشیمیایی گزارش شده ۱۰۲
جدول (۳-۲۴) داده‌های منحنی تنظیم اسکوربیک اسید بر اساس جریان الکتروکاتالیتیکی NADH در شرایط بهینه ۱۱۴
جدول (۳-۲۵) اندازه گیری TAC در نمونه های حقیقی متفاوت با استفاده از روش ارائه شده و اندازه گیری TPC با استفاده از روش استاندارد جذب UV-Vis (n=۴). ۱۱۸
جدول (۳-۲۶) داده‌های حاصل از تاثیر غلظت سولفیت بر روی پاسخ ولتامتری و ایمپدیمتری –(dsDNA/MWCNTs $(PDDA)_2$/PGE پس از قرارگرفتن در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰) اشباع شده از هوا حاوی مقدار معینی سولفیت در مدت زمان‌های ۳۰ دقیقه، ۲ و ۴ ساعت. سرعت اسکن ۵۰ میلی‌ولت‌برثانیه. ۱۲۴
جدول (۳-۲۷) داده‌های حاصل از تاثیر فلزات واسطه بر روی پاسخ ولتامتری و ایمپدیمتری –(dsDNA/MWCNTs $(PDDA)_2$/PGE پس از قرارگرفتن در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰) اشباع شده از هوا حاوی ۰/۵میلی‌مولار سولفیت و ۱۰/۰ میکرومولار از هر یک از فلزات واسطه به مدت ۲ ساعت. ۱۲۶
جدول (۳-۲۸) داده‌های حاصل از تاثیر غلظت سولفیت بر روی پاسخ ولتامتری و ایمپدیمتری –(dsDNA/MWCNTs PDDA)2/PGE پس از قرارگرفتن در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰) اشباع شده از هوا حاوی ۰/۵میلی‌مولار سولفیت و ۱۰/۰ میکرومولار از هر یک از فلزات واسطه به مدت ۲ ساعت. ۱۲۸
جدول (۳-۲۹) داده های حاصل از تاثیر غلظت فلزات واسطه بر روی پاسخ ولتامتری و ایمپدیمتری –(dsDNA/MWCNTs PDDA)2/PGE پس از قرارگرفتن در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰) اشباع شده از هوا حاوی ۰/۵میلی‌مولار سولفیت و غلظت‌های متفاوتی از هر یک از فلزات واسطه به مدت ۲ ساعت. ۱۲۹
جدول (۳-۳۰) اثر نوع ماتریس های آبی بر روی مقاومت انتقال بار $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2$/PGE بعد از ۲ ساعت قرار دادن در نمونه حاوی ۰/۵ میلی‌مولار سولفیت. ۱۳۰
جدول (۳-۳۱) اثر ماتریس‌های آبی متفاوت روی مقاومت انتقال بار $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2$/PGE بعد از ۲ ساعت قرار دادن در نمونه حاوی ۰/۵ میلی‌مولار سولفیت. ۱۳۰
جدول (۳-۳۲) اثر بازدارندگی SOD، EtOH و t-BuOH روی مقاومت انتقال بار $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2$/PGE بعد از ۲ ساعت قرار دادن در نمونه حاوی ۰/۵ میلی‌مولار سولفیت. ۱۳۱
جدول (۳-۳۳) داده های ولتاموگرام‌های هیدرودینامیک ۰/۵ میکرومولار دوکسوروبیسین به‌دست آمده از MPA در محلول الکترولیت 1X PBS pH= ۷/۴ و pH= ۵/۰. ..... ۱۳۹
جدول (۳-۳۴) داده‌های حاصل از تاثیر مقدار عددی پتانسیل زدایش بر روی تکرارپذیری سیگنال‌های آمپرومتری پنج تزریق متوالی از محلول ۰/۵ میکرومولار دوکسوروبیسین. ۱۴۱

جدول (۳-۳۵) داده‌های حاصل از تاثیر مدت زمان اعمال پتانسیل زدایش (۱/۰۰- ولت) بر روی تکرارپذیری سیگنال‌های آمپرومتری پنج تزریق متوالی از محلول ۰/۵ میکرومولار دوکسوروبیسین. ۱۴۲

جدول (۳-۳۶) داده‌های منحنی‌های تنظیم حاصل از ۱۰ تزریق دوکسوروبیسین ثبت شده در پتانسیل‌های ۰/۶۰+ ولت (اکسایش) و ۰/۶۰- ولت (کاهش) در الکترولیت 1X PBS (pH= ۷/۴). ۱۴۴

جدول (۳-۳۷) داده‌های منحنی‌های تنظیم حاصل از ۱۰ تزریق دوکسوروبیسین ثبت شده در پتانسیل‌های ۰/۶۰+ ولت (اکسایش) در الکترولیت 1X PBS (pH= ۵/۰). ۱۴۵

جدول (۳-۳۸) داده‌های منحنی تنظیم حاصل از ۵ تزریق دوکسوروبیسین، ثبت شده در پتانسیل ۰/۶- ولت در نمونه ۳۳٪ سرم انسان در الکترولیت 1X PBS (pH= ۷/۴). ۱۴۸

فهرست شکل‌ها

شکل (۱-۱) ساختار DNA ۵
شکل (۱-۲) ساختار گوانین ۱۰
شکل (۱-۳) شمای کلی واکنش سیلانیزه کردن به منظور اتصال کووالانسی مولکول مورد نظر به سطح الکترود در تهیه الکترود اصلاح شده شیمیایی. ۱۲
شکل (۱-۴) ساختار کایتوسان ۱۵
شکل (۱-۵) شکل گیری نانولوله‌ها از صفحات گرافین ۱۶
شکل (۱-۶) انواع نانولوله‌های کربنی: الف) چند دیواره، ب) تک دیواره ۱۷
شکل (۱-۷) انواع ساختار نانولوله‌ها بر اساس نحوه پیچیده شدن صفحات گرافین ۱۸
شکل (۱-۸) نمودار تغییر پتانسیل – زمان در ولتامتری چرخه ای. ۲۳
شکل (۱-۹) ولتاموگرام چرخه ای نمونه ای یک سیستم برگشت پذیر ۲۳
شکل (۱-۱۰) منحنی نایکوئیست یک سیستم الکتروشیمی ساده با مدار RC موازی ۲۶
شکل (۲-۱) ساختار شیمیایی ریبوفلاوین ۳۴
شکل (۲-۲) ساختارهای مولکولی تعدادی از آلکالوئیدهای مخدر ۳۷
شکل (۲-۳) ساختار شیمیایی دوکسوروبیسین ۴۳
شکل (۳-۱) شمای یک ظرف آزمایش (سل) برای اندازه‌گیری‌های ولتامتری، WE =الکترود کار، RE= الکترود مرجع، ۴۸
شکل (۳-۲) ولتاموگرامهای پالس تفاضلی گوانین (a) و آدنین (b) dsDNA ثبت شده بر روی الکترود PGE اصلاح شده پس از برهمکنش با (از بالا به پایین) ۰/۰، ۰/۵، ۱۵/۰، ۳۰/۰، ۴۰/۰، ۶۰/۰ و ۷۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین. (شرایط: اندازه گیری سیگنال در بافر استاتی (pH=۴/۸) در محدوده ۰/۴۰+ تا ۱/۴۰+ ولت با دامنه پالس ۵۰ میلی‌ولت و پالس پتانسیل ۵۰ میلی‌ثانیه و سرعت روبش ۱۰ میلی‌ولت بر ثانیه) ۵۴
شکل (۳-۳) طیفهای UV-Vis (a) ۴/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین قبل از برهم کنش با dsDNA (b) ۴/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین پس از برهمکنش با ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیترdsDNA (c) ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیترdsDNA در بافر استاتی (pH=۴/۸) ۵۵
شکل (۳-۴) وابستگی سیگنال اکسایش DPV بازهای آدنین (▲) و گوانین (♦) با غلظت dsDNA؛ شرایط: تثبیت dsDNA بر روی PGE در ۰/۵۰+ ولت در طول ۲۰۰ ثانیه، بقیه شرایط مشابه شکل (۳-۲). ۵۷
شکل (۳-۵) اثر زمان تغلیظ dsDNA در سطح الکترود PGE بر روی شدت جریان آدنین (▲) و گوانین (♦)؛

شرایط مانند شکل (۳-۲) در غلظت ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر dsDNA ۵۹
شکل (۳-۶) اثر زمان برهمکنش ۴۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین با الکترود PGE اصلاح شده با dsDNA بر سیگنال آدنین (▲) و گوانین (♦)؛ شرایط مشابه شکل (۳-۵) در زمان تغلیظ ۲۰۰ ثانیه ۶۱
شکل (۳-۷) منحنی های تنظیم اندازه گیری ریبوفلاوین از طریق دنبال کردن سیگنال (A) گوانین و (B) آدنین در شرایط بهینه ۶۳
شکل (۳-۸) ولتاموگرام پالس تفاضلی ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین (a) الکترود PGE همراه با پیش تغلیظ، (b) الکترود PPGE بدون پیش تغلیظ و (c) الکترود PPGE با پیش تغلیظ ۷۱
شکل (۳-۹) بررسی تأثیر pH بر پتانسیل پیک آندی محلول ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین در شرایط ارائه شده در جدول (۳-۱۰). ۷۲
شکل (۳-۱۰) تأثیر زمان پیش تغلیظ بر روی جریان اکسایش ۵/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ریبوفلاوین در pH=۷/۰ در پتانسیل‌های پیش‌تغلیظ (A) ۰/۰۰ و (B) ۱/۰۰- ولت. ۷۴
شکل (۳-۱۱) منحنی تنظیم برای اندازه‌گیری ریبوفلاوین در شرایط بهینه ازائه شده در جدول (۳-۱۲). ۷۵
شکل (۳-۱۲) AFM (A، C و E) و SEM (B، D و F) های بدست آمده از مراحل اصلاح سطوح الکترود A و B) PGE. C و D) PGE اصلاح شده با نانولوله های کربنی و E و F) PGE اصلاح شده با نانولوله های کربنی و dsDNA. ۸۳
شکل (۳-۱۳) A) منحنیهای نایکوئیست الکترود PGE ، PGE اصلاح شده با نانولوله های کربنی و PGE اصلاح شده با نانولوله های کربنی و dsDNA در محلول حاوی ۵/۰ میلی مولار فری و فرو سیانید آهن و ۰/۱ مولار KCl، B) ولتاموگرام های چرخه ای ۵/۰ میلی مولار فری و فرو سیانید آهن در محلول حاوی ۰/۱ مولار KCl با سرعت اسکن mV $100\ s^{-1}$ در شرایط الکترودی مختلف. ۸۴
شکل (۳-۱۴) ولتاموگرامهای بدست آمده از ۳۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کدئین در محلول بافر فسفاتی (pH= ۷/۰) بر روی الکترود PGE (a) در غیاب dsDNA، (b) در حضور ۲۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر dsDNA و (c) در حضور ۳۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر dsDNA. ۸۵
شکل (۳-۱۵) ولتاموگرامهای بدست آمده از ۳۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مورفین در محلول بافر pH= ۷/۰ بر روی الکترود PGE (a) در غیاب dsDNA، (b) در حضور ۲۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر dsDNA و (c) در حضور ۳۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر dsDNA. ۸۶
شکل (۳-۱۶) ولتاموگرامهای بدست آمده از ۳۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کدئین در محلول بافر pH= ۷/۰ بر روی الکترود PGE (a) در غیاب dsDNA و ssDNA، (b) در حضور ۲۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر dsDNA و (c) در حضور ۲۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ssDNA. ۸۷
شکل (۳-۱۷) ولتاموگرامهای بدست آمده از ۳۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مورفین در محلول بافر pH= ۷/۰ بر روی

الکترود PGE (a) در غیابdsDNA و ssDNA، (b) در حضور ۲۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر dsDNA و (c) در حضور ۲۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ssDNA. ۸۷
شکل (۳-۱۸) طیفهای UV-Vis ۴/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر A)کدئین و B) مورفین (a) قبل از برهمکنش با dsDNA و (b) پس از برهمکنش با ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر dsDNA (c) ۱۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیترdsDNA در بافر استاتی (pH=۴/۸). ۸۸
شکل (۳-۱۹) ولتاموگرامهای بدست آمده از ۳۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر A) کدئین و B) مورفین در محلول بافر فسفات pH= ۷/۰ پس از ۳۰۰ ثانیه تغلیظ بر روی الکترود (a) PGE، (b) dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE و (c) dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE ۸۹
شکل (۳-۲۰) ارتباط بین ΔI و غلظت A)کدئین و B) مورفین. C) ارتباط بین $\log[\Delta I/(\Delta I_{max}-\Delta I)]$ و log[codeine] و D) ارتباط بین $\log[\Delta I/(\Delta I_{max}-\Delta I)]$ و log[morphine] ۹۱
شکل (۳-۲۱) ولتاموگرام های پالس تفاضلی ۳۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کدئین در محلول بافر فسفات با pH های (a) ۷/۰ (b) ۸/۰ و (c) ۱۰/۰ بر روی PGE ۹۲
شکل (۳-۲۲) وابستگی سیگنال اکسایش DPV کدئین و مورفین به غلظت dsDNA پس از ۳۰۰ ثانیه تغلیظ بر روی الکترود dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE در محلول بافر فسفات pH= ۷/۰. ..... ۹۳
شکل (۳-۲۳) وابستگی سیگنال اکسایش DPV کدئین و مورفین به غلظت dsDNA پس از ۳۰۰ ثانیه تغلیظ بر روی الکترود dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE در محلول بافر فسفات pH= ۷/۰. ..... ۹۵
شکل (۳-۲۴) منحنی تغییرات جریان اکسایشی ۳۰/۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (A) کدئین و (B) مورفین بر حسب سرعت روبش بدست آمده از ولتاموگرام چرخهای در بافر فسفات pH= ۷/۰. ..... ۹۵
شکل (۳-۲۵) منحنی تنظیم اندازه گیری همزمان کدئین و مورفین از طریق دنبال کردن سیگنال اکسایش (A) کدئین و (B) مورفین در شرایط بهینه (pH=۷/۰، زمان تغلیظ مساوی با ۵ دقیقه و در شرایط مدار باز) و (C) ولتاموگرام‌های مربوطه. ۹۸
شکل (۳-۲۶) ولتاموگرام چرخه‌ای به‌دست آمده از dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE در محلول TE (pH=۹/۰) با سرعت اسکن ۵۰ میلی‌ولت‌برثانیه در غیابNADH پس از اکسیداسیون الکتروشیمیایی. ۱۰۸
شکل (۳-۲۷) ولتاموگرام چرخه‌ای به‌دست آمده از (a) dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE و (b) PGE اصلاح نشده در محلول TE (pH=۹/۰) با سرعت اسکن ۵۰ میلی‌ولت برثانیه در حضور ۰/۵ میلی‌مولار NADH و ۰/۰۱ مولار $CaCl_2$ پس از اکسیداسیون الکتروشیمیایی. ۱۰۸
شکل (۳-۲۸) ولتاموگرامهای پالس تفاضلی گوانین و آدنین dsDNA ثبت شده بر روی الکترود dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE (a) قبل از برهمکنش با محلول فنتون و (b) پس از برهمکنش با محلول فنتون.

(شرایط: اندازه گیری سیگنال در بافر استاتی (pH=۴/۸) در محدوده ۰/۴۰+ تا ۱/۴۰+ ولت با دامنه پالس ۵۰ میلی‌ولت و پالس پتانسیل ۵۰ میلی‌ثانیه و سرعت روبش ۱۰ میلی‌ولت بر ثانیه) ۱۰۹

شکل (۳-۲۹) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای به‌دست آمده از dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE در محلول TE (pH=۹/۰) با سرعت اسکن ۵۰ میلی‌ولت‌برثانیه در حضور ۰/۵ میلی‌مولار NADH و ۰/۰۱ مولار $CaCl_2$ پس از (a) قرار گرفتن در محلول فنتون و اکسیداسیون الکتروشیمیایی، (b) فقط اکسیداسیون الکتروشیمیایی و (c) قرار گرفتن در محلول فنتون حاوی ۱۰/۰ میکرومولار اسکوربیک اسید و اکسیداسیون الکتروشیمیایی ۱۱۰

شکل (۳-۳۰) اثر غلظت Fe^{+2} با ثابت نگه‌داشتن نسبت مولی Fe^{+2}: EDTA: H_2O_2 به‌صورت ۱:۲:۴۰ بر روی شدت جریان الکتروکاتالیتیکی NADH (۰/۵۰ میلی‌مولار) در محلول TE (pH=۹/۰) حاوی ۰/۰۱ مول برلیتر $CaCl_2$. (a) در غیاب و (b) در حضور آنتی‌اکسیدان. ۱۱۲

شکل (۳-۳۱) اثر زمان برهمکنش DNA و رادیکال‌های هیدروکسیل بر روی شدت جریان الکتروکاتالیتیکی NADH (۰/۵۰ میلی‌مولار) در محلول TE (pH=۹/۰) حاوی ۰/۰۱ مول‌برلیتر $CaCl_2$. (a) در غیاب و (b) در حضور آنتی‌اکسیدان. ۱۱۳

شکل (۳-۳۲) ولتاموگرامهای پالس تفاضلی به‌دست آمده بعد از قرار دادن الکترود PGE اصلاح شده با DNA در محلول فنتون حاوی (از پایین به بالا) ۰/۰۵، ۰/۱۰، ۰/۵۰، ۰/۸۰ و ۱/۰۰ میکرومول بر لیتر اسکوربیک اسید. (شرایط: اندازه‌گیری سیگنال در محلول TE (pH=۹/۰) حاوی ۰/۰۱ مول‌برلیتر $CaCl_2$ با دامنه پالس ۵۰ میلی‌ولت و پالس پتانسیل ۵۰ میلی‌ثانیه و سرعت روبش ۱۰ میلی‌ولت بر ثانیه) ۱۱۵

شکل (۳-۳۳) ارتباط بین شدت جریان الکتروکاتالیتیکی NADH و غلظت اسکوربیک اسید در شرایط بهینه. ... ۱۱۵

شکل (۳-۳۴) درصد بازدارندگی آنتی‌اکسیدان های مختلف: AA: اسکوربیک اسید، GA: گالیک اسید، FS: فیستین، UA: اوریک اسید، KF: کامپفرول ۱۱۶

شکل (۳-۳۵) تصویر SEM (A) PGE اصلاح نشده (B) MWCNTs–PDDA/PGE (C) و (D) $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2$/PGE با دو بزرگنمایی متفاوت. ۱۲۲

شکل (۳-۳۶) (A) ولتاموگرام های چرخه ای و (B) منحنیهای نایکوئیست ۵/۰ میلی مولار فری و فرو سیانید آهن در محلول حاوی ۰/۱ مولار KCl بر روی (a) PGE، (b) MWCNTs–PDDA/PGE، (c) dsDNA/MWCNTs–PDDA/PGE، (d) $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2$/PGE و (e) $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_3$/PGE). سرعت اسکن $100\ mV\ s^{-1}$ ۱۲۳

شکل (۳-۳۷) تاثیر غلظت سولفیت بر روی پاسخ (A) ولتامتری و (B) ایمپدیمتری (dsDNA/MWCNTs–PDDA)$_2$/PGE در شرایط ذکر شده در جدول (۳-۲۶). ۱۲۵

شکل (۳-۳۸) طیف‌های امپدانس $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2$/PGE در محلول ۰/۱ مولار KCl حاوی ۵/۰

میلی مولار فری و فرو سیانید آهن. قبل ازثبت طیف، $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2/PGE$ به مدت ۲ ساعت در محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۷/۰) اشباع شده از هوا حاوی ۰/۵میلی‌مولار سولفیت و ۱۰/۰ میکرومولار از هر یک از فلزات واسطه قرار گرفته است. ۱۲۶

شکل (۳-۳۹) تاثیر فلزات واسطه بر روی پاسخ (A) ولتامتری و (B) ایمپدیمتری $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2/PGE$ در شرایط ذکر شده در جدول (۳-۲۷). ۱۲۷

شکل (۳-۴۰) تاثیر غلظت سولفیت بر روی پاسخ ایمپدیمتری $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2/PGE$ در شرایط ذکر شده در جدول (۳-۲۸).....۱۲۸

شکل (۳-۴۱) تاثیر غلظت فلزات واسطه بر روی پاسخ ایمپدیمتری $(dsDNA/MWCNTs–PDDA)_2/PGE$ در شرایط ذکر شده در جدول (۳-۲۹).....۱۲۹

شکل (۳-۴۲) ولتاموگرام چرخه‌ای ۵/۰ میکرومولار دوکسوروبیسین بر روی الکترود GCE اصلاح شده با نانولوله‌های کربنی در محلول الکترولیت 1X PBS (pH= ۷/۰). ۱۳۹

شکل (۳-۴۳) ولتاموگرام‌های هیدرودینامیک ۰/۵ میکرومولار دوکسوروبیسین به‌دست آمده از MPA در محلول الکترولیت 1X PBS (A و B) pH= ۷/۰ و (C و D) pH= ۵/۰. .....۱۴۰

شکل (۳-۴۴) نمودارهای MPA و منحنی‌های تنظیم مربوطه حاصل از ۱۰ تزریق دوکسوروبیسین ثبت شده در پتانسیل‌های (A) ۰/۶۰+ ولت (اکسایش) و (B) ۰/۶۰- ولت (کاهش) در الکترولیت 1X PBS (pH= ۷/۴). ۱۴۳

شکل (۳-۴۵) نمودارهای MPA و منحنی‌های تنظیم مربوطه حاصل از ۱۰ تزریق دوکسوروبیسین ثبت شده در پتانسیل (A) ۰/۶۰+ ولت (اکسایش) در الکترولیت 1X PBS (pH= ۵/۰). ۱۴۴

شکل (۳-۴۶) (a) منحنی‌های آمپرومتری دوکسوروبیسین رهش یافته از لیپوزوم ها و پروفایل رهش مربوطه در (A) pH= ۷/۴ و (B) pH= ۵/۰. (b) پایداری پاسخ آمپرومتری محلول ۴/۰ میکرومولار دوکسوروبیسین در (A) pH= ۷/۴ و (B) pH= ۵/۰.....۱۴۶

شکل (۳-۴۷) اثر تغییر pH بر تغییر سیگنال آمپرومتری دوکسوروبیسن و پروفایل رهش دوکسوروبیسین از لیپوزوم‌ها. ۱۴۷

شکل (۳-۴۸) منحنی تنظیم حاصل از ۵ تزریق دوکسوروبیسین، ثبت شده در پتانسیل (A) ۰/۶- ولت در نمونه ۳۳٪ سرم انسان در الکترولیت 1X PBS (pH= ۷/۴). ۱۴۸

شکل (۳-۴۹) منحنی آمپرومتری دوکسوروبیسین رهش یافته از لیپوزوم ها و پروفایل رهش مربوطه در نمونه ۳۳٪ سرم انسان در الکترولیت 1X PBS (pH= ۷/۴). ۱۴۹