دانشگاه الزهرا (س)

دانشکده علوم پایه

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

رشته شیمی، گرایش تجزیه

عنوان

بررسی الکتروشیمیایی برهم‌کنش سیپروفلوکساسین- DNA در سطح الکترود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با ذرات نانوتیوپ چند دیواره کربن

استاد راهنما

پروفسور لیدا فتوحی

دانشجو

زینب عطوفی

مهر ۱۳۹۱

چکیده

برهم‌کنش سیپروفلوکساسین (Cf) با DNA دو رشته‌ای با روش‌های ولتامتری چرخه‌ای در سطح MWCNT-DNA-GCE، اسپکتروسکوپی نشر فلورسانس و اسپکتروسکوپی UV-vis مورد مطالعه قرار گرفت. حضور DNA موجب کاهش جریان و یک جابه‌جایی مثبت در پتانسیل پیک اکسیداسیون Cf می‌شود که نشان دهنده‌ی برهم‌کنش جایگیری بین‌لایه‌ای است. ثابت سرعت هتروژن (k_s) و ضریب انتقال الکترون (α) برای Cf آزاد و پیوند شده به DNA محاسبه شدند. داده‌های اسپکتروسکوپی UV ثابت کردند که برهم‌کنش بین Cf و DNA از نوع جایگیری بین‌لایه‌ای است. فلورسانس نشر شده توسط Cf در ۴۲۰nm در بافر برایتون-رابینسون (۰/۰۴M، pH=۷)، زمانی‌که DNA افزوده می‌شود، می‌تواند خاموش شود. مکانیسم خاموشی فلورسانس، خاموشی استاتیک بود و ثابت اتصال و تعداد مکان اتصال از نمودار استرن-والمر به‌دست آمدند. منحنی کالیبراسیون بین F_0/F و غلظت DNA در دو گستره‌ی دینامیک ۹۶-۰/۸ و $mg\ L^{-1}$ ۲۲۳-۹۶ $mg\ L^{-1}$ با حد تشخیص ۰/۳۳ $mg\ L^{-1}$ به دست آمد. این روش به‌طور موفقیت آمیزی برای آنالیز DNA در نمونه‌ی سرم مورد استفاده قرار گرفت.

کلمات کلیدی: سیپروفلوکساسین، DNA، نانولوله‌های کربنی چند دیواره، ولتامتری چرخه‌ای، فلورسانس.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱ مقدمه..... ۲

۱-۲ حالت‌های اتصال مولکول‌ها به DNA ۲

۱-۳ تاریخچه‌ی کوئینولون‌ها ۴

۱-۴ مکانیسم فعالیت کوئینولون‌ها..... ۶

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱ بررسی منابع..... ۹

فصل سوم: تئوری

۳-۱ الکترودهای اصلاح شده..... ۲۵

۳-۲ بیوسنسورهای الکتروشیمیایی..... ۲۷

۳-۳ نانولوله‌های کربنی..... ۳۰

۳-۴ اسپکتروسکوپی فلورسانس..... ۳۲

۳-۴-۱ خاموشی فلورسانس..... ۳۳

۳-۴-۱-۱ خاموشی دینامیک (برخوردی)..... ۳۴

۳-۴-۱-۲ خاموشی استاتیک..... ۳۴

۳-۴-۱-۳ تلفیق خاموشی دینامیک و استاتیک..... ۳۵

فصل چهارم: تجربی

۴-۱ مواد شیمیایی..... ۳۷

۴-۲ دستگاهوری..... ۳۷
۴-۳ مراحل انجام کار..... ۴۰
۴-۳-۱ تهیه محلول‌ها..... ۴۰
۴-۳-۲ ولتامتری چرخه‌ای..... ۴۲
۴-۳-۳ اسپکتروسکوپی UV-vis ۴۲
۴-۳-۴ اسپکتروسکوپی فلورسانس..... ۴۲
۴-۴ بررسی برهم‌کنش سیپروفلوکساسین با DNA ۴۲
۴-۴-۱ در سطح MWCNT-DNA-GCE..... ۴۲
۴-۴-۲ مطالعه‌ی اثر pH ۴۴
۴-۴-۳ مطالعات اثر سرعت روبش..... ۴۶
۴-۴-۳-۱ محاسبه‌ی ضرایب انتقال الکترون..... ۵۱
۴-۴-۳-۲ به‌دست آوردن E^0..... ۵۳
۴-۴-۳-۳ محاسبه‌ی k_s ۵۵
۴-۴-۳-۴ بررسی نفوذی یا جذبی بودن فرایندهای انتقال الکترون ۵۶
۴-۴-۴ محاسبه‌ی ثابت اتصال سیپروفلوکساسین با DNA ۶۰
۴-۵ مطالعات طیف‌سنجی ۶۳
۴-۵-۱ اسپکتروسکوپی UV-vis..... ۶۳
۴-۵-۲ اسپکتروسکوپی فلورسانس..... ۶۶
۴-۵-۲-۱ مکانیسم خاموشی..... ۶۷
۴-۵-۲-۲ محاسبه‌ی ثابت اتصال سیپروفلوکساسین با DNA و ضریب استوکیومتری..... ۶۹
۴-۶ اندازه‌گیری کمی DNA با استفاده از اسپکتروسکوپی فلورسانس..... ۷۱

۴-۶-۱ بررسی تأثیر pH ۷۱
۴-۶-۲ بررسی تأثیر قدرت یونی ۷۲
۴-۶-۳ رسم منحنی کالیبراسیون ۷۳
۴-۶-۴ حداقل مقدار قابل تشخیص (LOD) ۷۶
۴-۶-۵ تکرارپذیری ۷۷
۴-۶-۶ بررسی اثر مزاحمت ۷۹
۴-۶-۷ تعیین مقدار DNA در نمونه‌ی حقیقی ۸۱
فصل پنجم: نتیجه‌گیری
۵-۱ نتیجه‌گیری ۸۳
فهرست منابع و مآخذ ۸۷

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۴-۱ نتایج حاصل از ولتاموگرام‌های چرخه‌ای سیپروفلوکساسین mM ۰/۸ در سرعت‌های روبش مختلف در سطح MWCNT -GCE..... ۴۹

جدول ۴-۲ نتایج حاصل از ولتاموگرام‌های چرخه‌ای سیپروفلوکساسین mM ۰/۸ در سرعت‌های روبش مختلف در سطح MWCNT-DNA-GCE..... ۵۰

جدول ۴-۳ نتایج حاصل از مطالعات اثر سرعت روبش در سطح MWCNT-GCE و MWCNT-DNA-GCE..... ۵۹

جدول ۴-۴ نتایج حاصل از تکرار اندازه‌گیری DNA د ر محلول سیپروفلوکساسین mM ۰/۰۱۴..... ۷۹

جدول۴-۵ نتایج حاصل از بررسی گونه های مزاحم ۸۰

جدول ۴-۶ نتایج مربوط به تعیین DNA در نمونه‌ی حقیقی..... ۸۱

جدول ۵-۱ ارقام تجزیه‌ای شایسته..... ۸۴

جدول ۵-۲) مقایسه روش پیشنهادی برای اندازه‌گیری DNA با دیگر روش‌های گزارش شده..... ۸۵

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱) نمای شیارهای کوچک و بزرگ DNA..... ۳

شکل ۱-۲) نمای جایگیری بین‌لایه‌ای مولکول در DNA..... ۴

شکل ۱-۳) ساختارهای تعدادی از کوئینولون‌ها..... ۵

شکل ۱-۴) ساختار مولکولی سیپروفلوکساسین..... ۶

شکل ۳-۱) شمایی از یک بیوسنسور و اجزای آن..... ۲۸

شکل ۳-۲) نمایی از طراحی بیوسنسور های DNA جهت بررسی برهم کنش دارو-DNA..... ۳۰

شکل ۳-۳) نمایی از (a) نانولوله‌ی کربنی تک دیواره و (b) نانولوله‌ی کربنی چند دیواره..... ۳۱

شکل ۴-۱) نمای دستگاه Metrohm Model 746 VA Trace Analyzer..... ۳۸

شکل ۴-۲) نمای دستگاه Perkin Elmer Model Lambda 35..... ۳۹

شکل ۴-۳) نمای دستگاه Varian Model Cary Eclipse..... ۳۹

شکل ۴-۴) نمای pH متر Metrohm Model 744..... ۳۹

شکل ۴-۵) نمای ترازوی تجزیه‌ای Precisca..... ۳۹

شکل ۴-۶) نمای دستگاه Ultrasonic Model ɛlma Sonic..... ۴۰

شکل ۴-۷) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای سیپروفلوکساسین ۰/۸ mM در بافر برایتون-رابینسون M ۰/۰۴، pH=۷ (a) در سطح MWCNT-GCE، (b) در سطح MWCNT-DNA-GCE (c) محلول شاهد در سطح MWCNT-DNA-GCE..... ۴۴

شکل ۴-۸) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای سیپروفلوکساسین ۰/۸ mM در pH های a) ۲/۰ b) ۴/۰ c) ۴/۵ d) ۵/۰ e) ۵/۵ f) ۶/۰ g) ۶/۵ h) ۷/۰ i) ۷/۵ j) ۸/۰ k) ۱۰/۰، در سطح MWCNT-DNA-GCE ، سرعت روبش ۵۰ $mV\ s^{-1}$..... ۴۵

شکل ۴-۹) نمودار پتانسیل بر حسب pH بر اساس شرایط ذکر شده در شکل۴-۸ ..... ۴۶

شکل ۴-۱۰) مکانیسم اکسیداسیون سیپروفلوکساسین..... ۴۶

شکل ۴-۱۱) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای محلول۰/۸ mM سیپروفلوکساسین در بافر ۰/۰۴ M برایتون-رابینسون pH= ۷ در سطح MWCNT-GCE در سرعت‌های روبش a) ۱۰ b) ۲۰ c) ۳۰ d) ۴۰ e) ۵۰ f) ۶۰ g) ۸۰ h) ۱۰۰ $mV\ s^{-1}$..... ۴۷

شکل ۴-۱۲) ولتاموگرام‌های چرخه‌ای محلول ۰/۸ mM سیپروفلوکساسین در بافر ۰/۰۴ M برایتون- رابینسون pH=۷ در سطح MWCNT-DNA-GCE در سرعت‌های روبش a) ۱۰ b) ۲۰ c) ۳۰ d) ۴۰ e) ۵۰ f) ۶۰ g) ۸۰ h) ۱۰۰ $mV\ s^{-1}$..... ۴۸

شکل ۴-۱۳) نمودار پتانسیل بر حسب لگاریتم سرعت روبش بر اساس شرایط ذکر شده در شکل۴-۱۱.... ۵۲

شکل ۴-۱۴) نمودار پتانسیل بر حسب لگاریتم سرعت روبش بر اساس شرایط ذکر شده در شکل۴-۱۲..... ۵۳

شکل ۴-۱۵) نمودار پتانسیل بر حسب سرعت روبش بر اساس شرایط ذکر شده در شکل۴-۱۱..... ۵۴

شکل ۴-۱۶) نمودار پتانسیل بر حسب سرعت روبش بر اساس شرایط ذکر شده در شکل۴-۱۲..... ۵۵

شکل ۴-۱۷) نمودار جریان بر حسب سرعت روبش بر اساس شرایط ذکر شده در شکل ۴-۱۱.... ۵۸

شکل ۴-۱۸) نمودار جریان بر حسب سرعت روبش بر اساس شرایط ذکر شده در شکل ۴-۱۲..... ۵۹

شکل ۴-۱۹) ولتاموگرام های چرخه ای غلظت های مختلف محلول سیپروفلوکساسین در بافر برایتون-رابینسون M ۰/۰۴ و pH=۷ در سطح a MWCNT-DNA-GCE) ۰/۲، b) ۰/۴، c) ۰/۶، d) ۰/۸، e) ۱/۰، f) ۱/۲، g) ۱/۴mM در سرعت روبش ۵۰mV s^{-1}..... ۶۰

شکل ۴-۲۰) نمودار جریان بر حسب غلظت سیپروفلوکساسین بر اساس شرایط ذکر شده در شکل ۴-۱۹..... ۶۲

شکل ۴-۲۱) نمودار C/I بر حسب غلظت سیپروفلوکساسین بر اساس شرایط ذکر شده در شکل ۴-۱۹..... ۶۲

شکل ۴-۲۲) طیف جذبی محلول DNA M $۳/۲\times۱۰^{-۵}$ در بافر برایتون-رابینسون M ۰/۰۴، pH=۷..... ۶۴

شکل ۴-۲۳) طیف‌های جذبی محلول سیپروفلوکساسین mM ۰/۰۱۴ در بافر برایتون - رابینسون M ۰/۰۴، pH=۷ در حضور غلظت های مختلف a) DNA ۰، b) $۰/۴۴\times۱۰^{-۵}$، c) $۰/۸۶\times۱۰^{-۵}$، d) $۱/۱۲\times۱۰^{-۵}$، e) $۱/۷۰\times۱۰^{-۵}$، f) $۲/۱۲\times۱۰^{-۵}$M..... ۶۵

شکل ۴-۲۴) طیف‌های فلورسانس سیپروفلوکساسین mM ۰/۰۱۴ در بافر برایتون-رابینسون M ۰/۰۴، pH=۷ (a) در غیاب و (b) در حضور DNA با غلظت ۶mg L^{-1}..... ۶۶

شکل ۴-۲۵) طیف‌های فلورسانس سیپروفلوکساسین mM ۰/۰۱۴ در حضور غلظت های مختلف DNA . a) ۰، b) ۰/۴۴، c) ۰/۶۶ d) ۰/۷۶، e) ۰/۹۸، f) ۱/۲۰، g) ۱/۴۲، h) ۱/۶۴، i) $۱/۸۶\times۱۰^{-۵}$M ۶۸

شکل ۴-۲۶) نمودار استرن- والمر سیپروفلوکساسین mM ۰/۰۱۴ در حضور غلظت های مختلف DNA..... ۶۹

شکل ۴-۲۷) نمودار لگاریتم $[(F_0-F)/F]$ بر حسب لگاریتم غلظت DNA..... ۷۰

شکل ۴-۲۸) نمودار نسبت شدت‌های فلورسانس محلول سیپروفلوکساسین ۰/۰۱۴mM در غیاب و حضور DNA، بر حسب pH..... ۷۱

شکل ۴-۲۹) نمودار نسبت شدت‌های فلورسانس محلول سیپروفلوکساسین ۰/۰۱۴ mM در غیاب و حضور DNA، بر حسب قدرت یونی..... ۷۲

شکل ۴-۳۰)) طیف‌های فلورسانس محلول سیپروفلوکساسین ۰/۰۱۴ mM در حضور غلظت‌های مختلف DNA..... ۷۴

شکل ۴-۳۱) نمودار نسبت F_0/F محلول سیپروفلوکساسین ۰/۰۱۴ mM، بر حسب غلظت DNA ۷۵

شکل ۴-۳۲) نمودار کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی $mg\ L^{-1}$ ۹۶-۰/۸..... ۷۵

شکل ۴-۳۳) نمودار کالیبراسیون در محدوده‌ی غلظتی $mg\ L^{-1}$ ۲۲۳ -۹۶..... ۷۶

شکل ۴-۳۴) طیف های فلورسانس محلول سیپروفلوکساسین ۰/۰۱۴ mM با ۱۱ بار تکرار..... ۷۷

شکل ۴-۳۵) طیف‌های فلورسانس محلول سیپروفلوکساسین ۰/۰۱۴ mM در غیاب و حضور $mg\ L^{-1}$ ۳/۱۹ محلول DNA با ۱۱ بار تکرار..... ۷۸

فصل اول

مقدمه

۱-۱ مقدمه

در سال‌های اخیر مطالعه‌ی برهم‌کنش DNA با مولکول‌های کوچک مثل داروها، رنگ‌های آلی و فلزات بسیار مورد توجه قرار گرفته است. مطالعه‌ی این موضوع علاوه بر فهم مکانیسم برهم‌کنش مولکول‌ها با DNA، می‌تواند فرایند توسعه و کشف داروهایی که DNA را مورد هدف قرار می‌دهند سرعت ببخشد. نوکلئیک اسیدها بیومولکول‌های اساسی حیات هستند. تعداد زیادی داروی ضد سرطان شناخته شده‌اند که به منظور اجرای فعالیت بیولوژیکی شان با DNA برهم‌کنش می‌کنند[۲و۱].

برهم‌کنش DNA با داروها با روش‌های مختلفی مانند اسپکتروفلوریمتری [۳]، اسپکتروسکوپی UV-vis [۴]، رزونانس مغناطیسی هسته[۵]، لومینسانس[۶]، FT-IR [۷]، الکتروفورز کاپیلاری و روش‌های الکتروآنالیزی مورد بررسی قرار گرفته اند[۹و۸]. روش‌های الکتروشیمیایی در گذشته به منظور مطالعه‌ی برهم‌کنش ها مورد استفاده قرار می‌گرفتند. سیگنال‌های ولتامتری مشاهده شده به طور کلی اطلاعات مفیدی در مورد مکانیسم برهم‌کنش، ثابت اتصال و نیروهای اتصال در اختیار می‌گذارند. در این زمینه استفاده از بیوسنسور های الکتروشیمیایی DNA، روشی سریع و ارزان جهت سنجش برهم‌کنش داروها با DNA محسوب می‌شوند[۱۱و۱۰].

۱-۲ حالت‌های اتصال مولکول‌ها به DNA

در حالت کلی چهار حالت اتصال برای داروها با DNA وجود دارد:

۱-اتصال از طریق شیارهای کوچک[1]

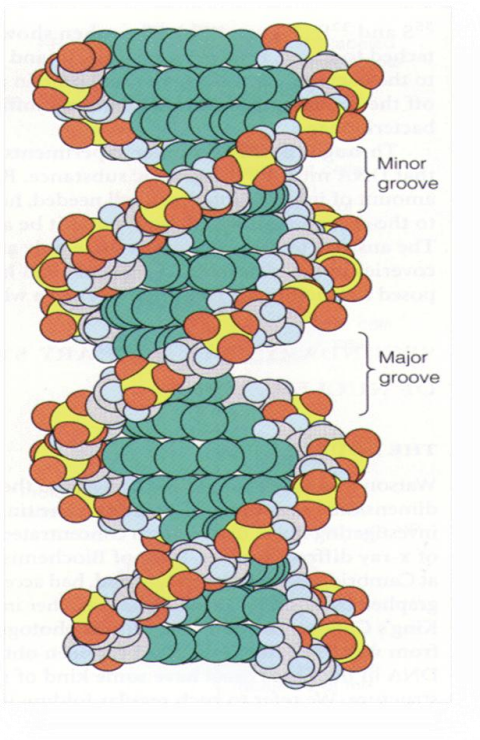
۲-اتصال از طریق شیارهای بزرگ[2]

[1]- Minor groove
[2]- Major groove

۳-اتصال سطحی یا الکتروستاتیک[1]

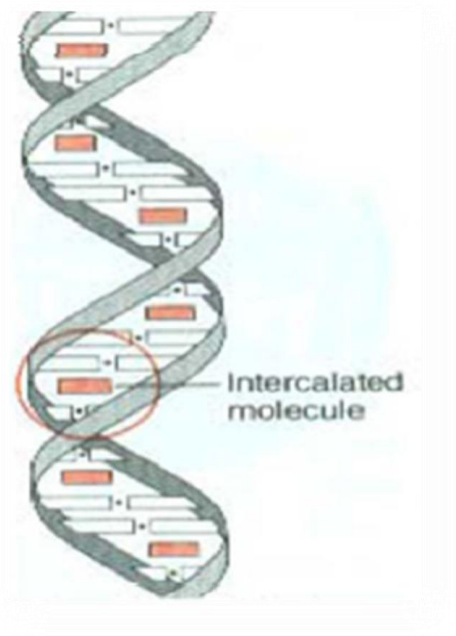
۴-جایگیری‌بین لایه‌ای[2]

در حالت اتصال از طریق شیارهای کوچک (شکل۱-۱) مولکول بین دیواره‌های باریک شیار جای می‌گیرد و از طریق پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش واندروالس پایدار می‌شود. شیارهای کوچک انعطاف بیش‌تری برای جای دادن مولکول‌ها دارند. بیش‌تر پروتئین‌ها از طریق شیارهای بزرگ به DNA متصل می‌شوند. در روش اتصال سطحی برهم‌کنش با اسکلت فسفات از طریق برهم‌کنش الکتروستاتیک، انجام می‌شود. این اتصال از نوع غیر ویژه است. در جایگیری بین لایه-ای سیستم‌های حلقوی آروماتیک وارد مارپیچ DNA می‌شوند و بین دو باز همسایه قرار می-گیرند(شکل ۱-۲). این اتصال با برهم‌کنش π-π بین حلقه‌های آروماتیک پایدار می‌شود.



شکل۱-۱) نمای شیارهای کوچک و بزرگ DNA

[1]- Electrostatic
[2]- Intercalation



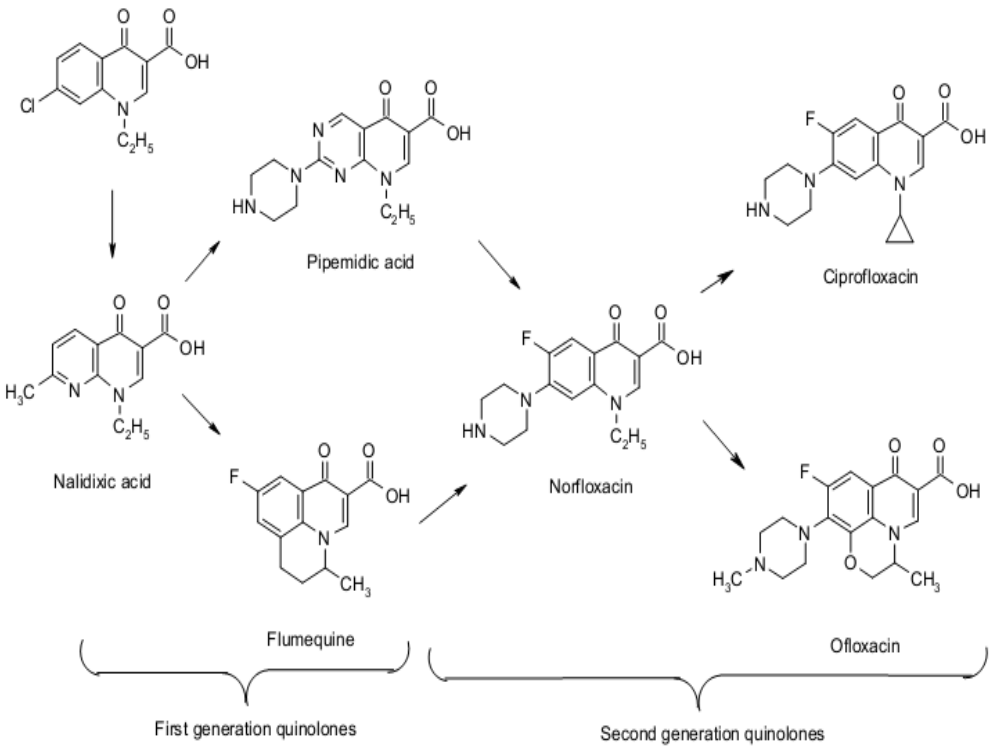
شکل ۱-۲) جایگیری بین‌لایه‌ای مولکول در DNA

۱-۳ تاریخچه‌ی کوئینولون‌ها[1]

پیدایش کوئینولون‌ها با کشف نالیدیکسیک[2] اسید توسط لِشِر[3] در سال ۱۹۶۲ آغاز شد. این کشف بسیار مهم فقط یک اتفاق بود. زمانی‌که لِشِر محصولات جانبی حاصل از سنتز کلروکوئین[4] را که یک داروی ضد مالاریا بود بررسی می‌کرد، متوجه شد که این محصول جانبی خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی دارد. در اواسط دهه‌ی ۸۰، فلوئور دار شدن (در موقعیت۶) موجب تولید نسل دوم کوئینولون‌ها به نام فلوئوروکوئینولون‌ها شد. فلوئوروکوئینولون‌ها از مزیت نفوذ عالی در بافت‌ها برخوردارند. در دهه‌ی ۹۰ نسل سوم کوئینولون‌ها به وجود آمدند که این کوئینولون‌ها دارای سیستم‌های حلقوی طویل هستند و تعدادی از آن‌ها خاصیت ضد سرطانی دارند[۱۲]. کوئینولون‌های نسل اول در برابر باکتری‌های هوازی گرم مثبت فعال‌تر از گرم

[1]-Quinolones
[2]-Nalidixic Acid
[3]-Lesher
[4]-Chloroquine

منفی‌ها هستند. نسل دوم کوئینولون‌ها در مقایسه با نسل اول در برابر باکتری‌های هوازی گرم مثبت فعال‌تر و در برابر گرم منفی‌ها هم فعال هستند ولی در مقابل باکتری‌های بی هوازی ضعیف عمل می‌کنند. نسل سوم کوئینولون‌ها در برابر باکتری‌های هوازی گرم مثبت و منفی و نیز بی‌هوازی ها عملکرد قابل قبولی دارند[۱۳].

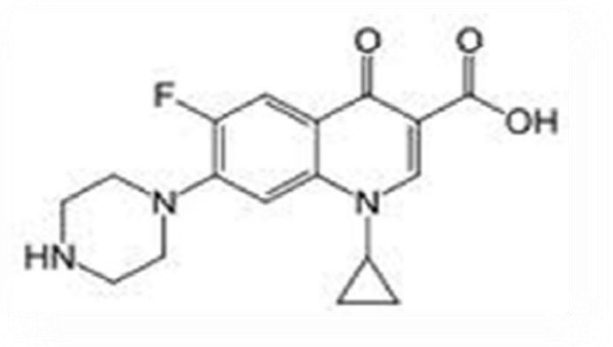


شکل ۱-۳) ساختارهای تعدادی از کوئینولون‌ها

سیپروفلوکساسین(۱-سیکلوپروپیل-۶-فلوئورو-۴-اکسو-۷-(پی‌پرازیل-۱-ایل)-کوئینولین-۳-کربوکسیلیک اسید) با فرمول شیمیایی $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ و وزن مولکولی۳۳۱/۳۴، یک آنتی‌بیوتیک سنتزی از دسته‌ی فلوئوروکوئینولون‌ها می‌باشد. از این دارو در درمان عفونت‌های مزمن ادراری پیچیده و پیلونفریت، عفونت‌های مزمن تنفسی، عفونت‌های پوستی، استخوانی و

مفصلی، سوزاک، اسهال عفونی، سینوزیت حاد و تب حصبه و در برخی موارد محدود در دامپزشکی استفاده می‌شود[۱۴].

این دارو در سراسر جهان با بیش از سیصد نام تجاری مختلف از جمله: Bay Cip، Ciloxan، Ciflox ، Cipro، Cipro XR، Ciproxin، Prociflor و... به بازار عرضه می-شود.



شکل۱-۴) ساختار مولکولی سیپروفلوکساسین

۱-۴ مکانیسم فعالیت کوئینولون‌ها

DNA کروموزومی به منظور جای گرفتن داخل هسته‌ی سلول به دور خود می‌پیچد و اصطلاحاً سوپر پیچه[1] تشکیل می‌دهد. در مرحله‌ی رونوشت برداریِ DNA، این سوپرپیچه باز می‌شود، رونوشت برداری انجام شده و دوباره رشته‌ی بازشده بسته می‌شود و پیچش مجدد انجام می‌شود. باز شدن DNA برای رونوشت برداری، بسته شدن و پیچش مجدد آن توسط دسته‌ای از توپوایزومرازها[2] به نام DNA gyrase انجام می‌گیرد، که برای این منظور DNA gyrase به DNA متصل می‌شود و تشکیل کمپلکس می‌دهد. این آنزیم هدف اصلی درون

[1]-Supercoil
[2]-Topoisomerase

سلولی کوئینولون‌ها است. کوئینولون به کمپلکس DNA-DNA gyrase متصل می‌شود و مانع از بسته شدن مجدد رشته‌ی DNA جدا شده (در مرحله‌ی رونوشت برداری) می‌شود و به این ترتیب با باکتری مبارزه می‌کند[۱۲].

در این مطالعه به منظور بررسی برهم‌کنش سیپروفلوکساسین با DNA از روش‌های ولتامتری چرخه‌ای، اسپکتروسکوپی UV-vis و فلورسانس استفاده شد.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱ بررسی منابع

در سال ۱۹۹۷ برت[1] کاهش الکتروشیمیایی مترونیدازول[2] را در سطح الکترود کربن شیشه-ای (GCE) اصلاح شده با DNA مورد بررسی قرار داد. پتانسیل کاهش مترونیدازول در سطح الکترود اصلاح شده با DNA در مقایسه با الکترود عریان منفی‌تر به دست آمد. در محیط‌های اسیدی وابستگی پتانسیل به pH مشاهده شد و مکانیسم کاهش، یک الکترون به ازای یک پروتون در نظر گرفته شد، در حالی که برای محلول‌های خنثی و قلیایی هیچ وابستگی با pH مشاهده نشد. با استفاده از این الکترودها در pH=۴/۵ و ۲ دقیقه پیش‌تغلیظ حد تشخیص مقدار ۱/۶۷ μM گزارش شد[۱۵].

زائو[3] و همکارانش در سال ۱۹۹۸ از الکترودهای اصلاح شده با DNA برای اندازه گیری ثابت اتصال و اندازه‌ی مکان اتصال $Co(bpy)_3^{3+}$ با DNA استفاده کردند. ثابت اتصال و اندازه‌ی مکان اتصال به ترتیب M^{-1} ۱۳/۵± ۱۱۵۷ و ۲/۹ به‌دست آمدند[۱۶] .

در سال ۱۹۹۹بررسی چگونگی برهم‌کنش DNA تثبیت شده روی سطح الکترود با میتومایسین C[4] کاهیده شده، در مقایسه با میتومایسینC فعال شده با اسید توسط مارین[5] و همکارانش گزارش شد. فعالت ضد سرطانی میتومایسینC با استفاده از ولتامتری عاری‌سازی و به وسیله الکترود قطره‌ی جیوه‌ی آویزانِ اصلاح شده با DNA مورد بررسی قرار گرفت. فعال سازی میتومایسین با اسید و فعال سازی کاهشی آن با هم مقایسه شدند و محصولات متفاوت تولید شده نشان دادند که دارو می‌تواند با بیش از یک طریق به DNA متصل شود. تحت شرایط فعال سازی با اسید، یک محصول تک عاملی بین ۱- C میتومایسین و۷ -N گوانین

[1]- Brett
[2]- Metronidazole
[3] - Zhao
[4] -Mitomycin C
[5] - Marin