جامعة الموصل

كلية العلوم

تصميم متحسسات كهروكيميائية / حيوية نانوية محورة مع البوليمرات، DNA، الهيموغلوبين و انزيم اليوريز للكشف عن الأدوية السرطانية شائعة الاستخدام في مدينة الموصل وتطبيقها على مصل الدم البشري

محمد إحسان مجيد عبدالحميد الحمداني

رسالة ماجستير

علوم الكيمياء / الكيمياء الفيزياوية

بإشراف

الدكتورة

إيمان عبدالمنعم الجوادي

1440 هـ

2019 م

الملخص

تضمنت الرسالة ثلاثة اجزاء رئيسة لكل منها فروع واجزاء على النحو الآتي

الجزء الاول :

- يتضمن قياس دراسة السلوك الفولتامتري للايتوبوسايد(ETP)،احد أهم العلاجات الكيميائية لمرضى سرطان الرئة ذي الخلايا الصغيرة SCLC ،على سطح قطب BGCE باستعمال تقنيتي SWV,CV
- بعد تثبيت ظروف القياس الخاصة بـETP تم تطوير المتحسس من خلال البلمرة الكهروكيميائية لـ اللايسين (PLY) ودراسة الظروف الخاصة للتجربة قبل البلمرة وبعدها بوصفها أول دراسة تفصيلية لعملية البلمرة الكهروكيميائية دون الاعتماد المباشر على الطرائق التقليدية في الاعتماد على الادبيات مع مراعاة تطابق النتائج لجهد الموجة مع الادبيات، للحصول على افضل متحسس لقياس ETP .

PLY/MWCNTs/GCE-ETP تم تعزيز المتحسس ولزيادة كفاءة القطب المحور في اعلاه تم وضع طبقة من انابيب الكاربون النانوية متعددة الجدران MWCNTs واعطت النتائج باستعمال هذا القطب (PLY/MWCNTs/GCE) زيادة واضحة بالتيار مما يعزز القراءات لقياس الـETP بقياس اقل حد للكشف($LOD=1.49\times10^{-11}$ M) مقارنة مع احدث قياسات الادبيات($LOD=5.40\times10^{-9}$ M)، بالاضافة الى دراسة العديد من العوامل التي تعزز دور المتحسس لقياس الـETP ومنها دراسة قابلية الاستقرارية والتكرار مدة 127 يوماً وقد احتفظ المتحسس بنحو 84.3٪ من الاستجابة الأصلية.

- تم اجراء تطبيقات عملية للقطب(PLY/MWCNTs/GCE) على نماذج دم مرضى SCLC من فئة الذكور للفئة العمرية (20-50) سنة الذين يتناولون الجرع الكيمياوية للـETP في 25 عينة لقياس تركيز الـETP بالاضافة الى بعض عينات السيطرة للفئة العمرية نفسها

- تم تحضير قطب محور جديد بالاعتماد على تثبيت انزيم الـUrease(Urs) لتحضير المتحسس الحيوي Urs/PLY/MWCNTs/GCE-ETP ودراسة علاقة الانزيم مع ETP وتأثيره من خلال دراسة ميكانيكية التفاعل الانزيمي للمتحسس الحيوي، ودراسة تأثير تثبيت الانزيم على سطح المتحسس من خلال زيادة المساحة السطحية والمساحة المغطاة RSA

- تم اجرا تطبيقات عملية للمتحسس الحيوي(Urs/PLY/MWCNTs/GCE) على نماذج دم مرضى SCLC للاناث (n=26) للفئة العمرية (20-50) سنة بالاضافة الى عينات السيطرة للفئة العمرية نفسها

- ونتيجة للارتباط الكبير بين العلاجات الكيميائية وتأثيرها على الخلايا السرطانية وبشكل خاص على DNA تم تحضير المتحسس المعتمد على الـDNA لقياس الـETP من خلال تثبيت الـDNA على جزيئات ثاني اوكسيد التيتانيوم النانوية (TiO_{2NPs}) لتعزيز قدرة المتحسس

DNA/TiO_{2NPs}/GCE-ETP وقد اظهر المتحسس استقرارية عالية وقابيلة استنساخ مميزة فضلا عن قياس تراكيز قليلة جدا ($LOD=3.28\times10^{-12}$)

❖ تمت دراسة الارتباط بين DNA-ETP وحساب قيمة ثابت الارتباط ($K=3.1\times10^{5}$)

❖ تمت دراسة احد اهم معلمات الاورام السرطانية بقياس تركيز الـDNA عند مرضى السرطان تسبقها دراسة تفصيلية للـDNA لامكانية تطبيقها وقياس تركيز الـDNA و قُيس التركيز في 105 عينة منقسمة بين مجاميع مرضى SCLC الذين يتناولون الـETP حصرا ومجاميع سيطرة ومقارنتها مع الطريقة الكيموحيوية

الجزء الثاني:

- تمت دراسة السلوك الفولتامتري للادريامايسين(ADM) العلاج الاكثر استعمالا في مدينة الموصل لمرضى سرطان الثدي BC على سطح قطب GE باستعمال تقنيتي SWV,CV
- تطوير المتحسس من خلال بلمرة الهيموغلوبين على سطح القطب(PHb/GrE) من خلال دراسة الظروف الخاصة للهيموغلوبين حيث يظهر المتحسس استجابة كبيرة للـADM

- PHb/MWCNTs/GrE-ADM تم تطوير المتحسس باستعمال MWCNTs والتي اعطت حساسية كبيرة لقياس ADM

- PNR/MWCNTs/GrE-ADM تطوير مونمر آخر لتحسين صفات المتحسس وذلك ببلمرة الحمرة المتعادلة NR والتي اعطت تميزاً كبيراً وحساسية عالية لقياس ADM ($LOD=6.61\times10^{-11}$ M) قابلية الاستقرارية والتكرار مدة 82 يوماً احتفظ المتحسس بنحو 90.6٪ من الاستجابة الأصلية

- استعمال Hb مرة ثانية ولكن من خلال استعمال تقنية التثبيت على سطح المتحسس الحيوي (Hb/PNR/MWCNTs/GrE-ADM) وبدراسة استقرارية المتحسس بدراسة الية التفاعل على سطح المتحسس الحيوي وحساب المساحة السطحية RSA والفعالية الحيوية الكهروكيميائية للـHb مع ADM
- ونظرا لاهمية المتحسس المحضر تم اجراء التطبيقات على مرضى BC الذين يتناولون الجرع الكيمياوية للـADM في 25 عينة لقياس تراكيز من خلال استعمال ثلاثة متحسسات حيوية
- يحضر المتحسس الحيوي المعتمد على الانزيم Urs/PNR/MWCNTs/GrE لقياس ADM من خلال دراسة ميكانيكية التفاعل الانزيمي الذي اعطى اقل حد للكشف(LOD=2.23×10^{-11} M)
- تم اجراء تطبيقات لمرضى BC للاناث (n=25) بالاضافة الى عينات السيطرة للفئة العمرية نفسها
- تم تحضير المتحسس المعتمد على الـDNA لقياس الـADM من خلال تثبيت الـDNA على (TiO_{2NPs}) لتعزيز قدرة المتحسس DNA/TiO_{2NPs}/GrE-ADM لقياس التراكيز القليلة والكبيرة ،وعند مقارنة هذا المتحسس مع بقية المتحسسات لقياس ADM المعتمدة على DNA وجد ان المتحسس في عملنا اعطى افضل LOD مقارنة بالادبيات

❖ تمت دراسة الارتباط بين DNA-ADM وحساب قيمة ثابت الارتباط ($K=1.1x10^{6}$)

❖ تمت دراسة معلمات الاورام السرطانية من خلال قياس تركيز الـDNA عند مرضى السرطان يسبقها دراسة تفصيلية للـDNA لامكانية تطبيقها وقياس تركيز الـDNA وتم ذلك بقياس التركيز في 101 عينة منقسمة بين مجاميع مرضى BC الذين يتناولون الـADM حصرا ومجاميع سيطرة ومقارنتها مع الطريقة الكيموحيوية

الجزء الثالث:

- تمت دراسة السلوك الفولتامتري للميثوتركسيت (MTX) الذي يستخدم لعلاج سرطان الرئة LC وسرطان الثدي BC على سطح قطب GCE باستعمال تقنيتي SWV,CV
- تطوير المتحسس من خلال بلمرة أرجينين ARG على سطح القطب و من خلال دراسة الظروف الخاصة حيث يظهر المتحسس استجابة للـMTX
- PArg/MWCNTs/GCE–MTX تم تطوير المتحسس باستعمال MWCNTs واعطى حساسية كبيرة للقياس
- PFA/MWCNTs/GCE-MTX تطوير مونمر اخر لتحسين صفات المتحسس وتمت بلمرة حامض الفوليك FA والتي اعطت تميز كبير وحساسية عالية لقياس MTX (LOD=4.86×10^{-10} M) مقارنة مع الادبيات قد اعطى افضل قياس قابلية الاستقرارية والتكرار مدة 68 يوماً احتفظ المتحسس بنحو 92.4٪ من الاستجابة الأصلية
- تم اجراء التطبيقات على مرضى LC الذين يتناولون الجرع الكيمياوية للـMTX في 25 عينة مع بعض عينات السيطرة لقياس التركيز من خلال استعمال ثلاثة متحسسات حيوية
- حُضر المتحسس الحيوي المعتمد على الانزيم Urs/PFA/MWCNTs/GCE لقياس MTX
- تم اجراء تطبيقات لمرضى BC للاناث (n=26) بالاضافة الى عينات السيطرة للفئة العمرية نفسها
- تم تحضير المتحسس المعتمد على الـDNA لقياس الـMTX من خلال تثبيت الـDNA على (TiO_{2NPs}) للتعزيز قدرة المتحسس DNA/ TiO_{2NPs}/GCE-MTX لقياس التراكيز القليلة والكبيرة

❖ تمت دراسة الارتباط بين DNA-MTX وحساب قيمة ثابت الارتباط ($K=5.9x10^{5}$)

❖ تمت دراسة احد اهم معلامات الاورام السرطانية من خلال قياس تركيز الـDNA عند مرضى السرطان يسبقها دراسة تفصيلية للـDNA (LOD=2.08×10^{-8} M) لاجل امكانية تطبيقها وقياس تركيز الـDNA وتم ذلك بتطبيق القياسات في 102 عينة منقسمة بين مجاميع مرضى BC و LC الذين يتناولون الـMTX حصرا ومجاميع سيطرة ومقارنتها مع الطريقة الكيموحيوية

تقدير الـDNA بالطريقة الكيميوحيوية

تم تقدير الـDNA بطريقة (Iranpur and Esmailizadeh) بعد استخلاص DNA في عينات لمجاميع المرضى لمختلف الامراض السرطانية ضمن الدراسة وعينات السيطرة التي تمت مراعاة ان تكون من نفس الفئة العمرية والجنس لتحديد الاختلاف في 308 عينة وقد اظهرت النتائج انخفاض في قيم تركيز الـDNA لمرضى السرطان مع مجاميع السيطرة المختلفة والتي تتطابق مع الطريقة الكهروكيميائية وتعزز النتائج للمتحسسات الحيوية المختلفة

ABSTRACT

The thesis involves three main parts each with branches and parts as follows:

part One

- involve measurement study for voltammetric behavior of Etoposide(ETP), one of which is chemotherapy for small cell lung cancer (SCLC), on a BGCE surface using SWV, CV
- After the measurement conditions of ETP have been installations, the sensor was developed through electrochemical polymerization of lysine (PLY) and study the special conditions of the experiment before and after polymerization as the first detailed study of the process of electrochemical polymerization without directly relying on traditional methods of relying on literature, taking into account the results match the wave voltage with the literature , To obtain the best sensor for ETP measurement.
- PLY/MWCNTs/GCE-ETP The sensor was enhanced to increase the efficiency of the above-developed electrode. A layer of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) was developed and the results using this PLY / MWCNTs / GCE electrode gave an increase in current, (LOD = 1.49×10^{-11} M) compared to the latest measurements of literature (LOD = 5.40×10^{-9} M), as well as several factors that enhance the role of the sensor to measure ETP, including the study of stability of 127 days, About 84.3% of the original response
- Practical applications of PLY/MWCNTs/GCE were performed on blood samples of male SCLC patients aged 20-50 years whose were taking ETP chemotherapy in 25 samples to measure the ETP concentration as well as some control samples for the same age group
- A new development electrode was developed based on the Urease (Urs) enzyme synthesis for the preparation of the Urs/PLY/MWCNTs/GCE-ETP biosensor and the study of the relationship and effect of the enzyme with ETP by studying the enzymatic mechanism of the biosensor , and study effect of enzymatic immobilization on the biosensor by Increase area covered and surface area RSA
- Practical applications of Urs/PLY/MWCNTs/GCE biosensor were performed on blood samples of female SCLC (n = 26) for the 20-20 age group plus control samples for the same age group
- The significant correlation between chemotherapy and its effect on cancer cells, particularly on DNA. The DNA-based sensor has been prepared to measure ETP by stabilizing the DNA on TiO_{2NPs} to enhance the sensor's ability DNA/TiO_{2NPs}/GCE-ETP the sensor showed high stability and characteristic cloning ability in addition to measuring very few concentrations (LOD = 3.28×10^{-12})
- The correlation between DNA-ETP and the correlation constant value was studied ($K = 3.1 \times 10^{5}$)
- A study of one of the most important markers of cancer tumors in measuring the concentration of DNA in cancer patients was preceded by a detailed study of the DNA to be applied and measuring the concentration of DNA and concentration in 105 samples divided between groups of patients with SCLC, which exclusively taking ETP and control groups and compared with biochemical method

part Two

- Study for voltammetric behavior of Adriamycin (ADM) treatment most commonly used in Mosul for breast cancer patients on the surface of the GrE using SWV, CV

- Development of the sensor through hemoglobin polymerization on the surface of the electrode (PHb/GrE) by studying the special conditions of hemoglobin where the sensor shows a significant response to ADM

- PHb/MWCNTs/GrE-ADM the sensor was developed using MWCNTs which gave a great sensitivity to ADM measurement

- PNR/MWCNTs/GrE-ADM development of another monomer to improve the sensitivity characteristics of NR, which gave significant differentiation and sensitivity to ADM (LOD = 6.61×10^{-11} M). Stability and recurrence For 82 days, the sensor retained about 90.6% of original response

- Using Hb again but using immobilization technique(Hb/PNR/MWCNTs/GrE-ADM) and the sensor stability study by studying the reaction mechanism on the surface of the biosensor and calculating the surface area RSA and the electrochemical bioactivity of Hb with ADM

- Due to the importance of registered biosensor, the applications were performed on BC patients whose were taking chemotherapy doses of ADM in 25 samples to measure concentration using three biosensors

- Urs of the biosensor based on enzyme Urs/PNR/MWCNTs/GrE to measure ADM by studying the mechanism of enzymatic reaction that gave (LOD=2.23×10^{-11} M)

- Applications were performed for female BC patients (n = 25) as well as control samples for the same class

- The DNA-based sensor was designed to measure ADM by immobilization the DNA on TiO_{2NPs} to enhance the DNA/TiO_{2NPs}/GE-ADM sensor to measure the small and large concentrations. When comparing this sensor with the rest of the DNA-based ADM sensors, we found that the sensor in our work gave Best LOD compared to literature

- The correlation between DNA-ADM and the correlation constant value ($K=1.1x10^{6}$)

- The markers of cancer tumors were studied by measuring the concentration of DNA in cancer patients preceded by a detailed study of DNA to be applied and measuring the concentration of DNA. This was done by measuring the concentration in 101 samples divided between groups of BC patients who exclusively taken ADM and control aggregates and compared with biochemical method

part Three

- Study for voltammetric behavior of Methotrexate (MTX), which is used to treat lung cancer and breast cancer, was studied on the surface of GCE using SWV, CV

- Development of the sensor by ARG polymerization on the surface of the electrode through special conditions study where the sensor appears in response to MTX

- PArg/MWCNTs/GCE-MTX Developed the sensor using MWCNTs and gave a high sensitivity to measurement

- PFA/MWCNTs/GCE-MTX developed another monomer to improve the characteristics of the sensor by folic acid, which gave a high degree of sensitivity to measure MTX (LOD=4.86×10^{-10}M) compared to literature. The best measure of stability and recurrence was given for 68 days The sensor retained about 92.4% of the original response

- Applications were performed on LC patients taking MTX chemical doses in 25 samples with some control samples to measure concentration using three biosensors

- Urs of the biosensor based on enzyme Urs/PFA/MWCNTs/GCE to measure MTX

- Applications were performed for female BC patients (n = 26) as well as control samples for the same age group
- The DNA-based sensor for measuring MTX was prepared by immobilization the DNA on TiO_{2NPs} to enhance the DNA/TiO_{2NPs}/GCE-MTX sensor to measure the small and large concentrations
- The correlation between DNA-MTX and the correlation constant value was studied ($K=5.9x10^{5}$)
- One of the most important markers of cancer tumors was studied by measuring the concentration of DNA in cancer patients preceded by detailed study of DNA(LOD $=2.08\times10^{-8}$M) in order to apply and measure the concentration of DNA. This was done by applying measurements in 102 samples divided between groups of BC and LC patients taken MTX exclusively and control groups and compared with biochemical method

Determination of DNA by biochemical method

DNA samples were evaluated in Iranpur and Esmailizadeh after DNA was extracted in samples of the patient groups for the various cancer diseases within the study and the control samples that were considered to be of the same age group and sex to determine the difference in 308 samples. The results showed a decrease in the DNA concentration values for cancer patients Different control which corresponds to the electrochemical method and enhances the results of different biosensors

University of Mosul
College of Science

Nano-Electrochemical/Biosensors Designing of Modified with Polymers, DNA, Hb & Urease Enzyme for Detecting Anticancer Drugs Commonly used in Mosul City and Its Application on Human Serum Blood

Mohammed Ihsan Majeed Abdul Hameed Al-Hamdani

M. Sc. Thesis
Chemistry/Physical Chemistry

Supervised by
Dr. Eman Abdul Monim Al -Jawadi

2019 A.D. **1440 A.H.**