



Semnan University



Research Article

Combination of Hollow Gold Nanoparticles and Aptamer for Accurate and Non-invasive Measurement of Carbamazepine

Faezeh Shahdost-Fard^{a,*}, Maliheh Arhami^b, Alireza Asghari^b, Maryam Rajabi^b

^aDepartment of Chemistry Education, Farhangiyani University, P.O. Box 14665-889, Tehran, Iran

^bDepartment of Chemistry, Semnan University, Semnan, Iran

PAPER INFO

Article history:

Received: 25/Jan/2025

Revised: 11/Apr/2025

Accepted: 13/Apr/2025

Keywords:

Aptasensor,
Carbamazepine,
Hollow Gold Nanospheres,
Non-invasive assay,
Green chemistry.

ABSTRACT

In this study, a highly sensitive and accurate aptasensor for carbamazepine detection is proposed based on the combination of hollow gold nanospheres with aptamers. Hollow gold nanospheres with unique advantages are immobilized on the surface of a glassy carbon electrode, and then the aptamer sequence is attached with high density on the surface of the hollow gold nanospheres. By adding carbamazepine to the embedded sensing surface and forming a carbamazepine/aptamer complex, the steric hindrance of the surface is increased and the electron transfer of the electrochemical probe (ferro/ferricyanid) on the surface is limited. Thus, carbamazepine is measured in the range of 1 femtomolar to 900 nanomolar with a detection limit of 3.3333 attomolar. The lack of response in the presence of other species with similar structures or properties, as well as the analysis of human biological fluid samples, indicates the very high selectivity of the aptasensor. The proposed strategy for the non-invasive measurement of carbamazepine was found to be in accordance with the principles of green chemistry in terms of two international indicators.

DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2025.36384.2330>

© 2025 Semnan University.

This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

*.Corresponding author: Assistant Professor of Analytical Chemistry. E-mail address: Shahdost@cfu.ac.ir

How to cite this article: Shahdost-Fard, F., Arhami, M., Asghari, A. & Rajabi, M. (2025). Combination of Hollow Gold Nanoparticles and Aptamer for Accurate and Non-invasive Measurement of Carbamazepine. *Applied Chemistry Today*, 20(74), 175-194. (in Persian)

تلفیق نانوکره های تو خالی طلا و آپتامر جهت سنجش دقیق و غیرتهاجمی

کاربامازپین

فائزه شه دوست فرد^{۱*}، ملیحه ارحامی^۲، علیرضا اصغری^۲، مریم رجبی^۲^۱ گروه آموزش شیمی، دانشگاه فرهنگیان، صندوق پستی ۸۱۹-۱۴۶۶۵، تهران، ایران^۲ دانشکده شیمی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۱۱/۰۶	در این پژوهش، بر اساس تلفیق نانوکره های تو خالی طلا با آپتامر یک آپتاسنجر بسیار حساس و دقیق برای سنجش کاربامازپین پیشنهاد شده است. نانوکره های تو خالی طلا با مزایای منحصر بفرد بر روی سطح الکتروود کربن شیشه ای تثبیت شده و سپس توالی آپتامر با چگالی بالا بر روی سطح نانوکره تو خالی طلا متصل می شود. با افزودن کاربامازپین بر روی سطح سنجش تعبیه شده و تشکیل کمپلکس کاربامازپین/آپتامر، مانعت فضایی سطح افزایش یافته و انتقال الکترون کاوشگر الکتروشیمیایی (فرورفری سیانید) بر روی سطح محدود می شود. بدین ترتیب، کاربامازپین در محدوده ۱ فتمومولار تا ۹۰۰ نانومولار با حدتشخیص ۳۳۳/۳ اتومولار اندازه گیری می گردد. عدم پاسخ در حضور سایر گونه ها با ساختارها و یا خواص مشابه همچنین آنالیز نمونه های مایعات زیستی انسانی گزینش پذیری بسیار بالای آپتاسنجر را نشان می دهد. استراتژی پیشنهادی جهت سنجش غیرتهاجمی کاربامازپین بر اساس دو شاخص بین المللی مطابق با اصول شیمی سبز تشخیص داده شده است.
بازنگری مقاله: ۱۴۰۴/۰۱/۲۲	
پذیرش مقاله: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴	
کلمات کلیدی: آپتاسنجر، کاربامازپین، نانوکره های تو خالی طلا، سنجش غیر تهاجمی، شیمی سبز.	

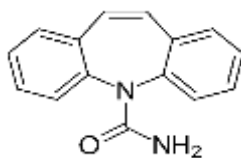
DOI: <https://doi.org/10.22075/chem.2025.36384.2330>This is an open access article under the CC-BY-SA 4.0 license. (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

۱- مقدمه

با گسترش مشکلات زندگی صنعتی و بروز اختلالات روانشناختی ناشی از عوارض همه گیری کرونا در سال های اخیر داروهای آرام بخش به عنوان پرمصرف ترین دسته از داروها جهت کاهش اضطراب و بهبود مشکلات روحی مورد استفاده قرار گرفته است. از سویی دیگر، تجویز گسترده و در دسترس بودن این دسته از داروها منجر به مصرف طولانی مدت و سوء استفاده افراد از آنها شده است [۱]. کاربامازپین^۱ (CBZ) با نام آیوپاک ۵-H-دی بنزو [b,f]ازپین-۵-کربوکسامید^۲ (شکل ۱) تحت نام های تجاری

^۱ Carbamazepine^۲ 5H-dibenzo [b,f]azepine-5-carboxamide

مختلفی شامل کرباترول^۱، تگرتول^۲، کرباژن^۳ و اپیتول^۴ به عنوان داروی مورد تایید سازمان غذا و دارو امریکا^۵ (FDA) در درمان و کنترل اختلالات عصبی، اسکیزوفرنی^۶، مانیک^۷ (شیدایی)، اختلال دوقطبی^۸ و سایر موارد مشابه تجویز می شود.



شکل ۱. ساختار شیمیایی کاربامازپین

علی رغم مزایای درمانی، اوردوز (مصرف بیشتر از ۵۰/۸ میکرومولار) این دارو منجر به عوارضی مانند اختلال در سیستم عصبی، فوبیا^۹، کاهش گلبول های سفید خون، سندرم استیون-جانسون^{۱۰}، کما^{۱۱} و حتی مرگ می شود. علاوه بر این، سوء مصرف همزمان این ماده تحریک کننده با الکل و ایجاد سرخوشی کاذب از طریق فعال سازی سیستم های دوپامینرژیک^{۱۲} / سروتونرژیک^{۱۳} و احساس اقدام به خودکشی در نوجوانان به یک نگرانی مهم بهداشت عمومی در دنیا تبدیل شده است [۸-۲]. از اینرو سنجش و پایش کاربامازپین در مایعات زیستی انسانی از طریق یک روش قابل اعتماد، ساده و راحت که به صورت خانگی و بدون نیاز به دستگاه های پیچیده قابل انجام باشد، از نظر کلینیک های درمانی، پزشکی-قانونی و سازمان های قضایی بسیار حائز اهمیت است. تا کنون چندین روش تجزیه ای برای تشخیص کاربامازپین مانند کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^{۱۴} (HPLC)، طیف سنجی جرمی^{۱۵} (MS)، کروماتوگرافی مایع همراه با طیف سنجی جرمی^{۱۶} (LC-MS)، کروماتوگرافی گازی^{۱۷} (GC)، نورتابی شیمیایی^{۱۸} و اسپکتروفتومتری^{۱۹} گزارش شده است [۹-۱۵]. با این حال، این روش ها اغلب نیازمند فرآیندهای آنالیز زمان بر، پیش تصفیه، ابزارهای غیرقابل حمل با هزینه های بالا، مصرف زیاد مواد گران قیمت و یا حلال های غیرایمن در هر آزمایش هستند و نمی توان آن ها را جهت نظارت سریع بر دارو و سنجش بر بالین استفاده کرد. چندین روش الکتروشیمیایی جهت سنجش کاربامازپین و

¹ Carbatrol

² Tegretol

³ Carbagen

⁴ Epitol

⁵ Food and Drug Administration

⁶ Schizophrenia

⁷ Manic episode

⁸ Bipolar disorder

⁹ Phobia

¹⁰ Stevens-Johnson syndrome

¹¹ Coma

¹² Dopaminergic

¹³ Serotonergic

¹⁴ High Performance Liquid Chromatography

¹⁵ Mass spectrometry

¹⁶ Liquid chromatography-mass spectrometry

¹⁷ Gas chromatography

¹⁸ Chemiluminescence

¹⁹ Spectrophotometry

متابولیت‌های آن بر اساس احیا/اکسید کاربامازپین برای غلبه بر محدودیت‌های مذکور پیشنهاد شده است [۱۶-۱۸]. اگرچه برخی از روش‌های مذکور ساده، آسان و سریع هستند با این حال، پتانسیل‌های اکسیداسیون بالا (< ولت ۰/۷) و احیا کم (> ولت ۰/۲-) کاربامازپین منجر به احیای مثبت کاذب قابل توجه برخی از مولکول‌های کوچک الکتروفعال موجود در مایعات زیستی انسانی به ویژه سرم خون (مانند آسکوربیک اسید، اوریک اسید، دوپامین، اکسیژن و غیره) می‌شود. بنابراین، این مولکول‌های الکتروفعال می‌توانند پاسخ کاربامازپین را در محدوده درمانی تحت الشعاع قرار داده و چالش‌هایی در سنجش مایعات زیستی پیچیده ایجاد کنند.

استفاده از آپتاسگرهای الکتروشیمیایی با بهره‌گیری از ویژگی‌های گزینش‌پذیری بسیار خوب آپتامر به گونه هدف و مزایای ذاتی تکنیک‌های الکتروشیمیایی می‌تواند سنجش حساس و دقیق کاربامازپین در مایعات زیستی انسانی را تضمین کند [۱۹-۲۰]. با این حال، گلوگاه اصلی در ساخت آپتاسگرهای الکتروشیمیایی استفاده مناسب از یک زیرلایه کارآمد جهت تثبیت محکم و پایدار آپتامر بر روی سطح می‌باشد. تاکنون نانومواد متنوعی برای کاربردهای شیمیایی مختلف سنتز شده‌اند و در میان آنها نانوساختارهای طلا مختلف با ویژگی‌های متنوع جهت کاربردهای سنجش گوناگون معرفی شده‌اند [۲۱-۲۶]. این دسته از نانوساختارها به دلیل خواص نانویی مساحت سطح فعال بیشتری را ایجاد می‌کنند به طوری که منجر به تقویت برهمکنش ماده با آنها می‌شود. علاوه بر این، ویژگی زیست‌سازگاری نانوساختارهای طلا منجر به استفاده گسترده آنها در واکنش‌های زیست-شیمیایی شده است و این عامل به عنوان یک ویژگی مهم در تطابق با اصول دوازده‌گانه شیمی سبز می‌باشد. نانوساختارهای طلا به راحتی با گروه‌های آمین آپتامر برهمکنش می‌دهند و می‌توانند به عنوان یک اتصال دهنده توالی آپتامر را بر روی سطح مورد نظر تثبیت کنند [۲۷]. از اینرو، در این پروژه نانوکره‌های تو خالی طلا^۱ (HGNS) به عنوان یک نانوساختار با ویژگی‌های منحصریافته مورد استفاده قرار گرفته است.

این مطالعه نحوه طراحی و ساخت آپتاسگر الکتروشیمیایی مبتنی بر HGNS جهت سنجش دقیق و حساس کاربامازپین را گزارش می‌دهد. سنجش گزینش‌پذیر و غیرتهاجمی کاربامازپین در نمونه‌های حقیقی انسانی مطابق با اصول شیمی سبز که توسط شاخص‌های بین‌المللی رایج تایید شده است از دیگر مزایای روش پیشنهادی می‌باشد.

۲- بخش تجربی

۲-۱- مواد شیمیایی

توالی آپتامر ویژه کاربامازپین 5'-NH₂-(CH₂)₆ CGA GGC TCT CGG GAC GAC GGG GCA CGG GCC TCT (3'-GGA TTT ACA G-3') از شرکت بایونیر^۲ (کره) خریداری شد.

¹ Hollow Gold Nanospheres

² BIONEER

بوروهیدرید سدیم (NaBH_4)، کلروآریک اسید (HAuCl_4)، تری سدیم سیترات ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$)، کبات کلرید (CoCl_2)، پودر آلومینا (Al_2O_3)، فسفریک اسید (H_3PO_4)، دی سدیم فسفات. ۱۲ آب ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)، پتاسیم فری سیانید ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$)، پتاسیم فروسیانید ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$)، آلبومین سرم گاوی^۱ (BSA)، از شرکت های مرک^۲ (آلمان)، لوبا کم^۳ (هند)، امرتات شیمی (ایران) و رویالکس^۴ (هند) خریداری شدند. آب دیونیزه شده توسط سیستم Milli-Q با مقاومت ۱۸/۲ مگا اهم بر سانتی متر تهیه گردید.

۲-۲- دستگاه ها و نرم افزارها

یک سیستم الکتروشیمیایی سه الکترودی شامل سیم پلاتین به عنوان الکترود کمکی، الکترود نقره-نقره/کلرید اشباع (Ag/AgCl) به عنوان الکترود مرجع و الکترود کربن شیشه‌ای^۵ (GCE) به عنوان الکترود کار استفاده شده است. مطالعات ولتامتری شامل ولتامتری چرخه‌ای^۶ (CV) و ولتامتری پالس تفاضلی^۷ (DPV) توسط دستگاه پتانسیواستات/گالوانواستات Orignalys مدل OGF500 (فرانسه) با استفاده از نرم افزار OrigaMaster5 انجام گرفت. علاوه بر این، دستگاه Ivium stat Potentiostat/Galvanostat مدل Vertex (هلند) جهت بررسی های طیف سنجی امیدانس الکتروشیمیایی^۸ (EIS) مورد استفاده قرار گرفت. تمامی آزمایش های الکتروشیمیایی در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) با استفاده از گونه کاوشگر الکتروفعال فروافر سیانید^۹ ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$) به عنوان الکترولیت بررسی شد.

ویژگی های ریخت شناسی نانوکره های تو خالی طلا سنتز شده توسط دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی انتشار میدانی (FE-SEM) مجهز به جزء طیف سنج پراش انرژی پرتو ایکس^{۱۰} (EDX) و میکروسکوپ الکترونی نوری^{۱۱} (TEM) به ترتیب با دستگاه مدل سیگما VP ۳۰۰ (آلمان) و دستگاه مدل EM ۲۰۸ S (هلند) مورد بررسی قرار گرفت. ویژگی سبز بودن روش پیشنهادی توسط دو شاخص بین المللی روش تجزیه ای سبز تکمیلی^{۱۲} (ComplexGAPI) و رویکرد سبز بودن تجزیه ای^{۱۳} (AGREE) به کمک نرم افزار آنلاین که به ترتیب در لینک <https://mostwiedzy.pl/complexgapi> و <https://mostwiedzy.pl/AGREE> به صورت رایگان در دسترس است، مورد بررسی قرار گرفت.

¹ Bovine Serum Albumin

² Merck

³ LOBA chemie

⁴ ROYALEX

⁵ Glassy Carbon Electrode

⁶ Cyclic Voltammetry

⁷ Differential Pulse Voltammetry

⁸ Electrochemical Impedance Spectroscopy

⁹ ferro/ferri cyanide

¹⁰ Energy-dispersive X-ray

¹¹ Transmission Electron Microscopic

¹² complimentary green analytical procedure index

¹³ analytical greenness approach

۳-۲- سنتز نانوکوره‌های تو خالی طلا

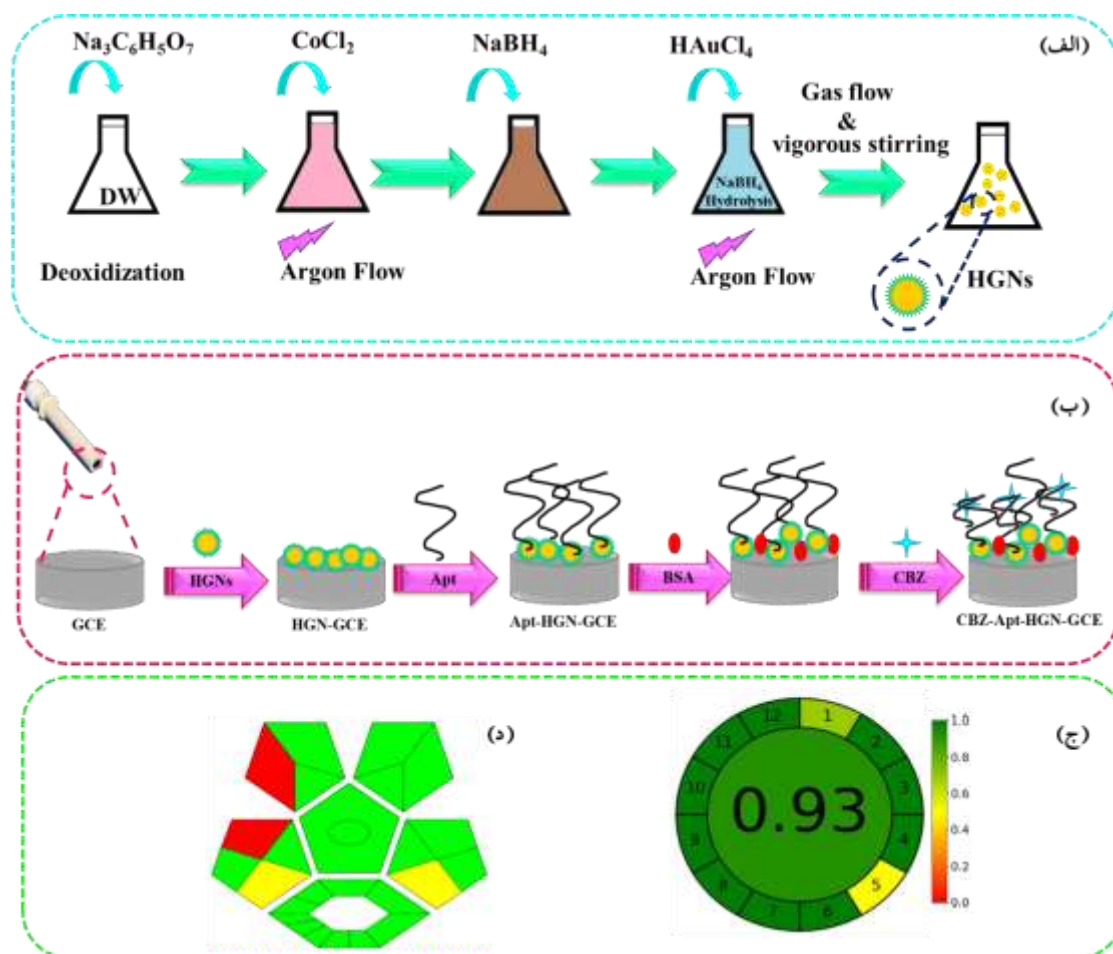
ابتدا به ۱۰۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر که توسط گاز نیتروژن در یک بالن سه دهانه اکسیژن زدایی شده بود، ۴۰۰ میکرولیتر سدیم سیترات ۰/۱ مولار اضافه گردید. سپس، تحت جریان گاز آرگون، ۱۰۰ میکرولیتر کبالت کلرید ۰/۴ مولار به محلول اضافه شد. با افزودن ۳۲۰ میکرولیتر سدیم بوروهیدرید (۱ مولار) رنگ محلول از صورتی کم رنگ به قهوه ای تغییر کرد. جهت اطمینان از هیدرولیز کامل سدیم بوروهیدرید جریان گاز تا ۶۰ دقیقه ادامه یافت. در مرحله بعد، ۵۰ میکرولیتر محلول طلا (۰/۱ مولار)، تحت جریان گاز آرگون، به تدریج به محلول فوق اضافه شد. پس از قطع جریان گاز فلز کبالت باقی مانده طی هم زدن شدید در محلول اکسید شد و محصول نهایی نانوکوره‌های تو خالی طلا سنتز گردید. شمایی از مراحل ساخت نانوکوره‌های تو خالی طلا در شکل ۲-الف) نشان داده شده است [۲۸].

۴-۲- ساخت آپتاحتسگر الکتروشیمیایی مبتنی بر نانوکوره‌های تو خالی طلا

ابتدا الکتروود کربن شیشه‌ای با پودر آلومینا پولیش داده شد و سپس سطح الکتروود در محلول آب و اتانول استیرر گردید تا آلودگی‌های احتمالی بر روی آن حذف شده و تمییز گردد. سپس، ۱۰ میکرولیتر از نانوکوره‌های تو خالی طلا سنتز شده در مرحله قبل بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای تمیز قطره گذاری شد (مدت ۵ ساعت) تا الکتروود کربن شیشه‌ای-نانوکوره‌های تو خالی طلا (HGNS-GCE) تهیه شود. در مرحله بعد، ۱۰ میکرولیتر آپتامر با غلظت ۱ میکرومولار روی سطح الکتروود تعبیه شده قطره‌گذاری شد (۲ ساعت) تا آپتامر از طریق گروه آمین (NH_2) در ابتدای دنباله-۵' به نانوکوره‌های تو خالی طلا تثبیت شده بر روی سطح الکتروود متصل شود (Apt-HGNS-GCE). سپس، ۵ میکرولیتر آلبومین سرم گاوی (۱٪، وزنی/حجمی) به عنوان مسدود کننده روی سطح Apt-HGN-GCE (به مدت ۱۵ دقیقه) تثبیت شد تا از جذب سطحی احتمالی ذرات روی سطح الکتروود جلوگیری شود. در پایان، الکتروود BSA-Apt-HGN-GCE حاصل با آب مقطر شسته شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد تا به عنوان آپتاحتسگر در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گیرد. شمایی از مراحل ساخت آپتاحتسگر در شکل ۲-ب) نشان داده شده است.

۵-۲- اصول سنجش کاربامازپین

استراتژی پیشنهادی در این پژوهش مبتنی بر برهمکنش آپتامر با کاربامازپین و افزایش ممانعت فضایی ناشی از تشکیل کمپلکس مربوطه بر روی سطح سنجش می‌باشد. بدین منظور، ۱۰ میکرولیتر از محلول کاربامازپین روی سطح آپتاحتسگر ساخته شده قطره گذاری گردید و پس از ۱ ساعت ماندگاری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، سطح الکتروود به آرامی شسته شد. در مرحله بعد، پاسخ الکتروشیمیایی آپتاحتسگر ساخته شده از طریق ردیابی تغییر سیگنال مربوط به فرو/فری سیانید به عنوان کاوشگر الکتروشیمیایی توسط روش ولتامتری پالس تفاضلی (DPV) در حضور غلظت‌های مختلف دارو مورد ارزیابی قرار گرفت.



شکل ۲. شمایی از (الف) مراحل سنتز نانوکره‌های تو خالی طلا و (ب) فرآیند ساخت آبتاحسگر الکتروشیمیایی کاربامازپین. تصاویر استخراج شده از نرم‌افزار جهت ارزیابی پروفایل سبز بودن روش با (ج) شاخص روش تجزیه ای سبز تکمیلی (ComplexGAPI) و (د) شاخص رویکرد سبزی تحلیلی (AGREE).

۲-۶- آماده‌سازی نمونه‌ی حقیقی

تعدادی نمونه ادرار، بزاق و سرم خون از یک دختر ۳۳ ساله سالم و ناشتا با رعایت اصول اخلاقی انسانی به طور تصادفی جمع آوری گردید. هر یک از نمونه‌ها به طور جداگانه به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفیوژ (۴۰۰۰ دور در دقیقه) گردید و سپس با بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH = ۷/۴) به نسبت ۱:۱ رقیق شد. از آنجایی که تمام نمونه‌های واقعی عاری از کاربامازپین بودند، حجم مشخصی از محلول استوک کاربامازپین به هر نمونه انسانی اضافه شد تا غلظت‌های مختلف آنالیت شامل ۵۰۰ فمتومولار، ۵۰۰ پیکومولار و ۵۰۰ نانومولار به دست آید. در نهایت تمامی نمونه‌های تهیه شده توسط آبتاحسگر ساخته شده آنالیز شدند.

۳- بحث و نتیجه گیری

۳-۱- بررسی مشخصات ریخت‌شناسی نانوکره‌های تو خالی طلا

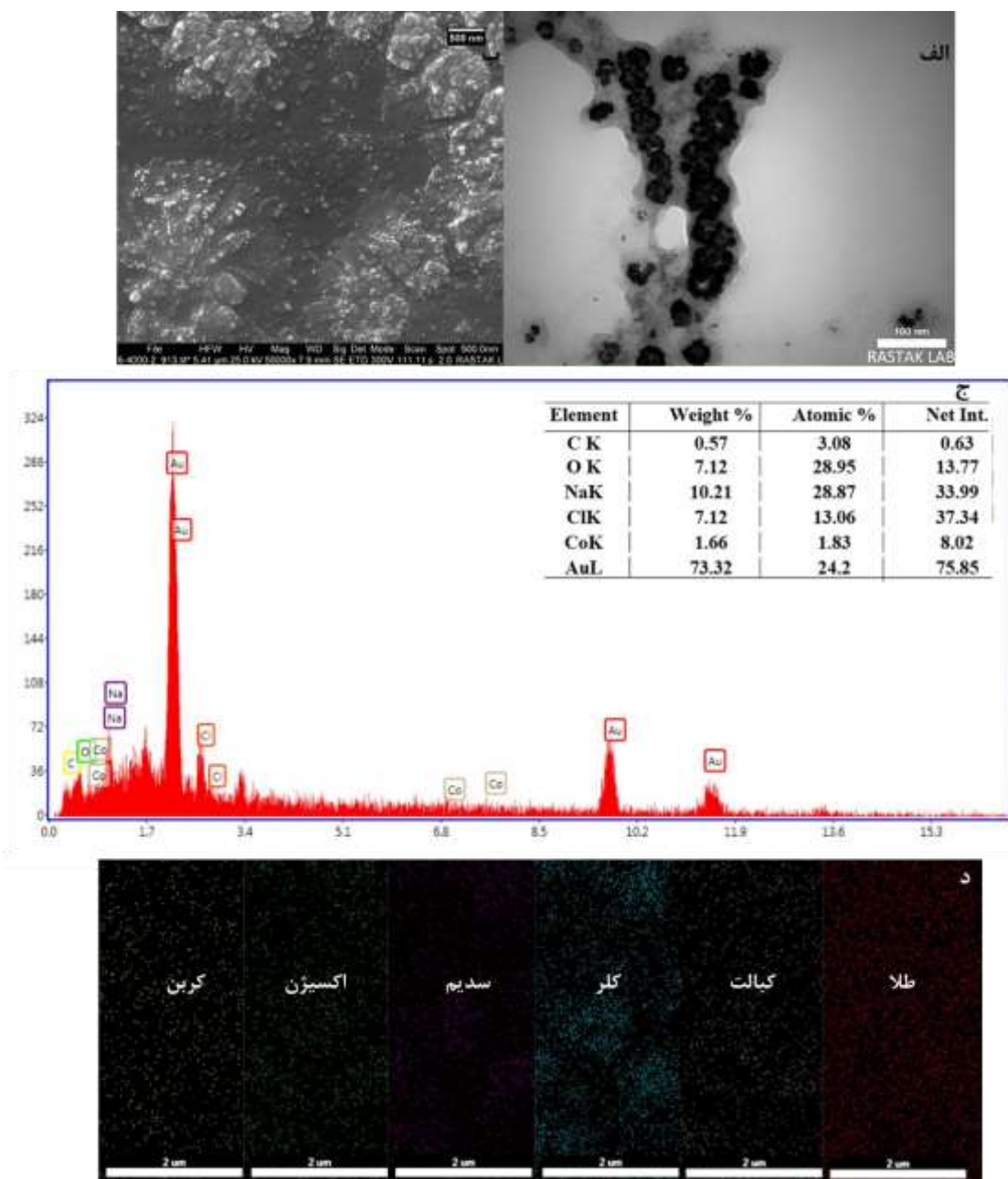
در این روش، نانوکره‌های تو خالی طلا به عنوان یک زیرلایه مناسب و متخلخل جهت تثبیت آبتامر بر روی آن پیشنهاد شده است. این زیرلایه به عنوان یک اتصال دهنده توالی آبتامر را با چگالی بالا بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای متصل می‌کند. روش

سنتر نانوکره های طلای توخالی در این پژوهش جایگزینی گالوانیکی از طریق قربانی کردن نانو ذرات کبالت می باشد. در واقع نانوذرات کبالت نقش یک قالب فداشونده را ایفا می کنند. در انتها با قطع جریان گاز و باز کردن درب بالن، محلول تحت اتمسفر محیط به شدت هم زده شد تا کبالت ها با اکسیژن اتمسفر ترکیب شده و اکسید شوند. نانو کبالت نقش قالب را دارند و وقتی کبالت اکسید خارج می شود، طلای به شکل نانوکره های تو خالی در می آید.

به منظور بررسی ویژگی های ریخت شناسی نانوکره های تو خالی طلا، از روش های مشخصه یابی مختلف استفاده شد. همانطور که در تصویر TEM در شکل ۳-الف) دیده می شود حاشیه های مشبک از طلا به وضوح مشخص شده است که نشان می دهد این ذرات پلی کریستالی با اندازه بزرگ تک بلوری هستند. در واقع نانوکره های طلا پیوسته نیستند، اما شبیه به مجموعه ای از چهل تکه های کوچک تر ذرات طلا هستند. علاوه بر این، حاشیه های شبکه ای شکل به خوبی حل شده اند و فاصله بین لایه های مشابه نمونه کریستالی آن در تصویر مشاهده می شود [۲۹]. اختلاف تضاد کنتراست رنگی در مرکز روشن و لبه بسیار تیره تر، ساختار توخالی نانوکره های طلا را تأیید می کند [۳۰]. در شکل ۳-ب)، تصویر SEM از سطح الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با نانوکره های تو خالی طلا، شبکه های دایره ای با کنتراست رنگی تیره و روشن را ارائه می دهد [۳۱]. علاوه بر این تصاویر موجود در شکل ۳-ج) و (د) به ترتیب آنالیز EDX و نقشه آنالیز عنصری از سطح الکتروود کربن شیشه ای اصلاح شده با نانوکره های تو خالی طلا را نشان می دهد. این نتایج حضور عناصر مختلف شامل طلا (۷۳/۳۲٪)، سدیم (۱۰/۲۱٪)، اکسیژن (۷/۱۲٪)، کلر (۷/۱۲٪)، کبالت (۱/۶۶٪) و کربن (۰/۵۷٪) با درصد های وزنی مختلف بر روی سطح را اثبات می کند. تمامی نتایج فوق سنتز موفق آمیز نانوکره های تو خالی طلا و تثبیت درست آن بر روی سطح الکتروود را تأیید می کنند.

۳-۲- بررسی رفتار الکتروشیمیایی آبتاحسگر ساخته شده

به منظور بررسی تثبیت درست هر لایه در فرآیند ساخت آبتاحسگر، رفتار الکتروشیمیایی الکتروود کربن شیشه ای اصلاح نشده و الکتروود های اصلاح شده در هر مرحله توسط تکنیک های الکتروشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۴-الف) تا (ج)). طیف های الکتروشیمیایی مربوطه در محلول ۰/۱ میلی مولار از پتاسیم کلرید حاوی ۰/۱ مولار از فروفری سیانید به عنوان کاوشگر الکتروشیمیایی ثبت گردید. همانطور که در شکل ۴-الف) نشان داده شده است، ولتاموگرام چرخه ای الکتروود کربن شیشه ای اصلاح نشده (در سرعت روبش ۱۰۰ میلی ولت/ثانیه) جریان پیک اکسایش/کاهش قوی (جریان آندی: ۱/۰۲ میلی آمپر و جریان کاتدی: ۱/۰۲- میلی آمپر) با رفتار برگشت پذیر و اختلاف پتانسیل پیک آندی و پیک کاتدی (ΔE) ۰/۱۸ ولت را نشان می دهد که مربوط به واکنش الکتروشیمیایی کاوشگر الکتروفعال فروفری سیانید می باشد. در مرحله بعد الکتروود اصلاح شده با نانوکره های تو خالی طلا افزایش در مقدار جریان آندی و کاتدی (جریان آندی: ۱/۱۲ میلی آمپر و جریان کاتدی: ۱/۱۰- میلی آمپر) و کاهش در مقدار ΔE (۰/۱۷ ولت) را نشان می دهد که این امر به هدایت بالای نانوکره های تو خالی طلا و توانایی افزایش انتقال الکترون آن نسبت داده می شود.



شکل ۳. تصاویر مربوط به (الف) TEM از نانوکره‌های تو خالی طلا سنتز شده، (ب) SEM، (ج) آنالیز EDX و (د) نقشه آنالیز عنصری از نانوکره‌های تو خالی طلا تثبیت شده بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای

اتصال آپتامر بر روی سطح الکتروود کربن شیشه‌ای-نانوکره‌های تو خالی طلا با کاهش مقادیر جریان‌های آندی ($1/0.3$ میلی‌آمپر) و کاتدی ($1/0.3$ میلی‌آمپر) و همچنین افزایش اختلاف پتانسیل به 0.2 ولت تایید می‌شود. این رفتار الکتروشیمیایی می‌تواند ناشی از افزایش ممانعت فضایی سطح الکتروود اصلاح شده با توالی آپتامر با ماهیت بار منفی و عدم دسترسی کاوشگر الکتروشیمیایی روی سطح جهت انتقال الکترون باشد. تثبیت آلبومین سرم گاوی به منظور جلوگیری از جذب غیراختصاصی گونه منجر به کاهش جریان‌های آندی (0.93 میلی‌آمپر) و کاتدی (0.94 میلی‌آمپر) و افزایش مقدار اختلاف پتانسیل (0.20 میلی‌ولت) می‌شود. در مرحله بعد، انکوبه کردن کاربامازپین (غلظت 1 نانومولار) روی سطح آپتاسرگ جریان‌های آندی و کاتدی

را به ترتیب به ۰/۸۸ و ۰/۹۰- میلی آمپر کاهش داده و سبب افزایش اختلاف پتانسیل به ۰/۲۱ میلی ولت می‌شود. این رفتار می‌تواند به افزایش ممانعت فضایی ناشی از تغییر پیکربندی آپتامر جهت به دام انداختن کاربامازپین و تشکیل کمپلکس آپتامر/کاربامازپین بر روی سطح سنجش و کاهش انتقال الکترون روی سطح نسبت داده شود. جهت بررسی بیشتر مراحل تثبیت هر لایه، از تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی استفاده شد. نتایج در شکل ۴- (ب) نشان می‌دهد که تثبیت لایه نانوکوره‌های تو خالی طلا منجر به افزایش جریان آندی نسبت به الکتروود اصلاح نشده می‌گردد. اتصال آپتامر با بار منفی بر روی سطح الکتروود اصلاح شده با نانوکوره‌های تو خالی طلا منجر به کاهش جریان آندی می‌گردد. علاوه بر این، کاهش بیشتر جریان آندی در مرحله بعد به تثبیت لایه آلبومین سرم گاوی نسبت داده می‌شود. افزایش ممانعت فضایی سطح و کاهش جریان در مرحله آخر برهمکنش ویژه آپتامر با کاربامازپین و تشکیل کمپلکس مربوطه روی سطح را تایید می‌کند.

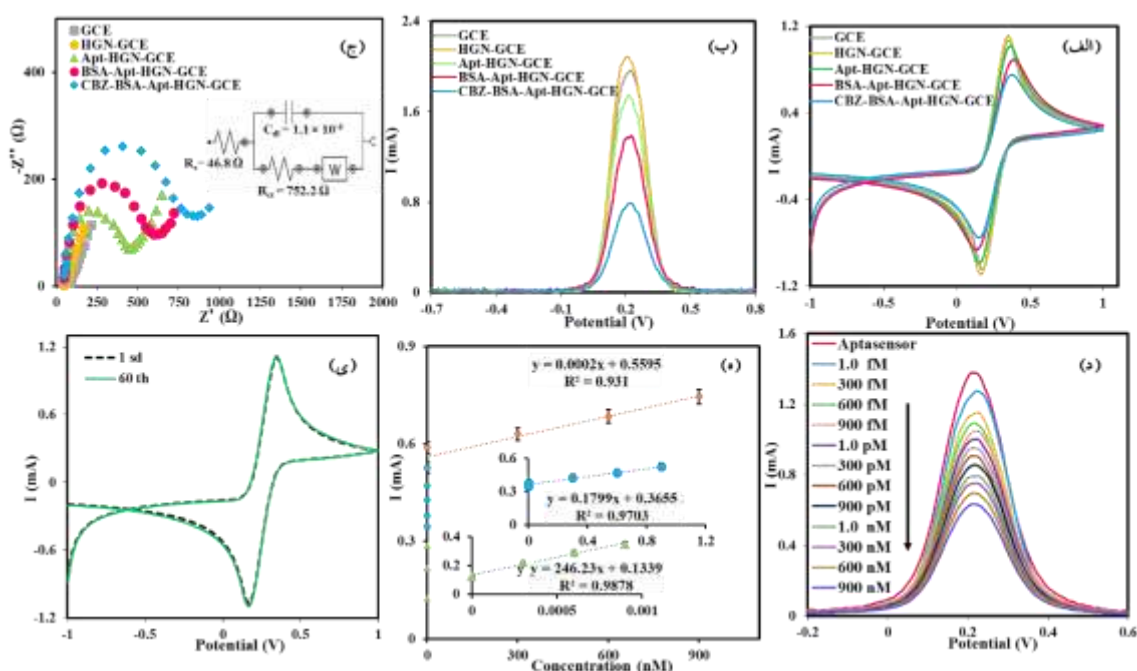
به منظور بررسی دقیق‌تر سطح سنجش تعبیه شده از تکنیک امپدانس الکتروشیمیایی استفاده شد و منحنی‌های نایکوئست مربوط به هر سطح الکتروود در محلول کاوشگر الکتروشیمیایی در پتانسیل ۰/۲۷ ولت و در محدوده فرکانس ۰/۱ تا ۱۰^۴ هرتز ثبت گردید. قطر نیم دایره حاصل در این تکنیک نشان دهنده مقدار مقاومت انتقال الکترون^۱ (R_{ct}) در هر مرحله می‌باشد. همانطور که در شکل ۴- (ج) نشان داده شده است، الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح نشده یک نیم دایره کوچک با مقدار مقاومت انتقال الکترون ۱۷/۸۸ اهم را نشان می‌دهد در حالی که تثبیت لایه نانوکوره‌های تو خالی طلا بر روی سطح الکتروود منجر به کاهش مقدار قطر نیم دایره (۹ اهم) می‌شود. این رفتار الکتروشیمیایی به لایه طلای متخلخل تثبیت شده بر روی سطح و افزایش هدایت انتقال الکترون مربوط به کاوشگر الکتروشیمیایی نسبت داده می‌شود. افزایش مقدار مقاومت سطح به ۳۶۲/۵ اهم در مرحله بعدی می‌تواند ناشی از اتصال شیمیایی توالی آپتامر از طریق گروه عاملی آمین در دنباله-۵^۱ آن به لایه نانوظلا باشد. بدین ترتیب توالی آپتامر با بار منفی روی سطح بارگیری شده و به دلیل دافعه با کاوشگر الکتروشیمیایی آنیونی مقدار مقاومت سطح افزایش می‌یابد. مسدود شدن بیشتر سطح الکتروود با تثبیت آلبومین سرم گاوی در مرحله بعد و افزایش قطر نیم دایره تا ۵۵۳ اهم همراه می‌باشد. افزایش مقاومت تا ۷۵۲/۲ اهم در مرحله آخر به اتصال کاربامازپین به آپتامر و تشکیل کمپلکس آپتامر/کاربامازپین همراه با ممانعت فضایی حاصل از آن بر روی سطح سنجش نسبت داده می‌شود (جدول-۱). مدار معادل فیت شده بر اساس داده‌های امپدانس به کمک چهار پارامتر ظرفیت لایه دوگانه الکتروکاتیون^۲ (C_{dl})، مقاومت الکتروولیت (R_s)، امپدانس واربرگ^۳ (W) و مقاومت انتقال بار بدست آمد که این امر رفتار الکتروشیمیایی منحنی نایکوئست حاصل را تایید می‌کند (حاشیه شکل ۴- (ج)).

¹ Charge Transfer Resistance

² Double-layer Capacitance

³ Warburg Impedance

داده‌های حاصل از هر سه تکنیک الکتروشیمیایی مذکور تثبیت درست هر لایه و ساخت موفقیت آمیز آپتاسنجر جهت سنجش کاربامازپین را اثبات می‌کند.



شکل ۴. الف) ولتاموگرام های چرخه ای (تحت سرعت روبش پتانسیل ۱۰۰ میلی ولت بر ثانیه)، ب) ولتاموگرام های پالس تفاضلی، ج) منحنی های نایکوئیست بدست آمده و مدار معادل حاصل در مراحل ساخت آپتاسنجر الکتروشیمیایی جهت سنجش کاربامازپین در حضور محلول ۰/۱ مولار پتاسیم کلرید حاوی ۰/۱ مولار فروفوری سیانید، د) ولتاموگرام های بدست آمده از الکتروود Apt-HGNs-GCE در حضور غلظت های ۱ فمتومولار تا ۹۰۰ نانومولار از کاربامازپین و ه) منحنی کالیبراسیون غلظت های مختلف کاربامازپین و ی) ولتاموگرام های چرخه ای ثبت شده از سطح آپتاسنجر پس از اولین و ششمین چرخه متوالی.

جدول ۱- پارامترهای استخراج شده از منحنی های نایکوئیست روش طیف سنجی امپدانس الکتروشیمیایی مربوط به هر لایه از الکتروود اصلاح شده در محلول الکتروفعال فروفوری سیانید

الکتروود	مقاومت محلول (R_s) بر حسب اهم	مقاومت انتقال بار (R_{ct}) بر حسب اهم
کربن شیشه‌ای	۳۰	۱۷/۸۸
نانوطلائی تو خالی/کربن شیشه‌ای	۳۰/۲۰	۹
آپتامر/ نانوطلائی تو خالی/کربن شیشه‌ای	۳۸/۲۰	۳۶۲/۵۰
آلبومین سرم گاوی/آپتامر/ نانوطلائی تو خالی/کربن شیشه‌ای	۴۶	۵۵۳
کاربامازپین/آلبومین سرم گاوی/آپتامر/ نانوطلائی تو خالی/کربن شیشه‌ای	۴۶/۸۰	۷۵۲/۲

۳-۳- بررسی شرایط بهینه در سنجش کاربامازپین

به دلیل آنکه که آپتامر یک بزرگ مولکول زیستی است و به منظور حفظ ماهیت ذاتی آن، محیط بافر فسفات با مقدار $\text{pH} = 7.4$ به عنوان محیط زیستی با اسیدیته بهینه در تمام بررسی‌ها در نظر گرفته شد [۳۲-۳۳]. جهت بررسی مدت زمان لازم برای برهمکنش کاربامازپین با آپتامر، کاربامازپین طی پنج زمان مختلف شامل ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۹۰ دقیقه بر روی سطح ۵

آپتاسگر مجزا انکوبه شد و منحنی‌های ولتامتری پالس تفاضلی مربوطه ثبت گردید. مقدار جریان در حضور و عدم حضور کاربامازپین (ΔI) با افزایش زمان از ۱۵ دقیقه تا ۶۰ دقیقه افزایش یافت و سپس با افزایش زمان از ۶۰ دقیقه تا ۹۰ دقیقه، پاسخ آپتاسگر کم شد. این رفتار نشان می‌دهد طی مدت زمان ۶۰ دقیقه آپتامر فرصت کافی برای تغییر پیکربندی ساختار خود جهت به دام انداختن کاربامازپین را دارد و با تشکیل بیشتر کمپلکس‌های کاربامازپین/آپتامر ممانعت فضایی سطح افزایش یافته و اختلاف جریان به بیشترین مقدار خود می‌رسد. در حالی که با افزایش بیشتر زمان از ۶۰ دقیقه تا ۹۰ دقیقه، انباشت بیشتر مولکول کاربامازپین منجر به جدا شدن احتمالی آپتامر از روی سطح و کاهش ممانعت فضایی حاصل از آن می‌شود. بنابراین مدت زمان ۶۰ دقیقه به عنوان زمان انکوباسیون بهینه کاربامازپین بر روی سطح آپتاسگر انتخاب گردید.

۳-۴- بررسی کارایی تجزیه‌ای آپتاسگر در سنجش کمی کاربامازپین

به منظور بررسی توانایی آپتاسگر الکتروشیمیایی در سنجش کمی کاربامازپین غلظت‌های مختلف این دارو در محدوده ۱ فمتومولار تا ۹۰۰ نانومولار مورد آنالیز قرار گرفت و تغییرات پاسخ آپتاسگر توسط تکنیک ولتامتری پالس تفاضلی بررسی شد. همانطور که در شکل ۴-د) نمایش داده شده است، افزایش غلظت کاربامازپین از ۱ فمتومولار به ۹۰۰ نانومولار منجر به کاهش پاسخ جریان آپتاسگر می‌شود. این رفتار می‌تواند به تشکیل تعداد زیادی از کمپلکس‌های آپتامر/کاربامازپین در ازای افزایش غلظت کاربامازپین انکوبه شده بر روی سطح سنجش نسبت داده شود. بنابراین ممانعت فضایی حاصل از این برهمکنش منجر به مسدود شدن سطح شده و توانایی انتقال الکترون کاوشگر الکتروشیمیایی بر روی سطح را کاهش می‌دهد. بررسی رابطه خطی بین اختلاف جریان (ΔI) مربوط به آپتاسگر (قبل و بعد از انکوباسیون کاربامازپین روی سطح) با افزایش غلظت کاربامازپین در منحنی کالیبراسیون شکل ۴-ه) نشان داده شده است. بر این اساس، سه رابطه خطی بین مقدار ΔI و غلظت‌های مختلف کاربامازپین وجود دارد: $R^2 = 0.9878$ ($\Delta I = 0.1339 \text{ (نانومولار)} + 0.0002$) برای غلظت‌های پایین (۱ فمتومولار تا ۹۰۰ فمتومولار)، $R^2 = 0.9977$ ($\Delta I = 0.3787 \text{ (نانومولار)} + 0.0002$) برای غلظت‌های متوسط (۱ پیکومولار تا ۹۰۰ پیکومولار) و $R^2 = 0.9931$ ($\Delta I = 0.5828 \text{ (نانومولار)} + 0.0003$) برای غلظت‌های بالا (۱ نانومولار تا ۹۰۰ نانومولار). پارامترهای حساسیت (شیب منحنی کالیبراسیون) و حد تشخیص (سیگنال به نویز = ۳) آپتاسگر پیشنهادی بر اساس محدوده غلظت پایین‌تر به ترتیب ۳۳۳/۳ آتومولار و ۰/۰۲ نانوامپر بر نانومولار محاسبه شد.

بررسی نتایج حاصل از این روش با سایر روش‌های سنجش کاربامازپین در دیگر مقالات (جدول ۲) نشان می‌دهد که آپتاسگر پیشنهادی دارای محدوده وسیع غلظتی و حد تشخیص بسیار بهتر نسبت به سایر موارد می‌باشد. این دستاورد به استفاده از نانوکوره‌های تو خالی طلا به عنوان یک بستر کارآمد و همچنین استفاده از توالی آپتامر با حساسیت بالا نسبت به کاربامازپین طی یک روش سنجش آسان نسبت داده می‌شود.

جدول-۲. خلاصه عملکرد سنجش روش های مختلف برای تشخیص کاربامازپین

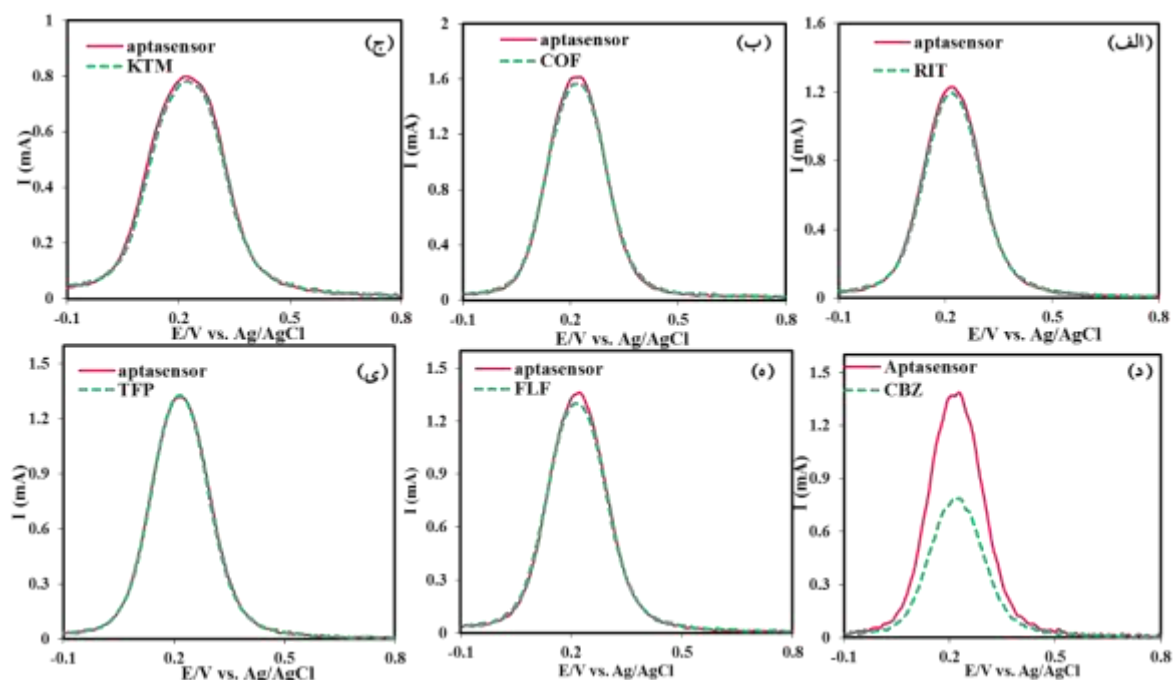
تکنیک	محدوده خطی (میکرو مولار)	نمونه حقیقی	حد تشخیص (نانومولار)	مرجع
کروماتوگرافی مایع-اسپکتروسکوپی	$10^{-6} \times 21$	بزاقت	۸۴۶/۴۹	[۳۴]
کوماتوگرافی گازی-جرم سنجی	$10^{-2} \times 4/23$ $10^{-6} \times 33$	پلازما	۲۱۱/۶۲	[۳۵]
میکرو استخراج و کروماتوگرافی گازی-جرم سنجی	۰/۲۱۱ - ۱۲/۶۹	پلازما	$10^{-4} \times 1$	[۳۶]
رامان اسپکتروسکوپی	$10^{-6} \times 8 - 10^{-6}$	بزاقت	۱/۲۶	[۳۷]
پتانسیومتری	$10^{-4} \times 1 - 10^{-4}$	فرمولاسیون های دارویی	$10^{-3} \times 9/60$	[۳۸]
ولتامتری چرخه ای	۰/۰۱-۹۰	سرم-ادرار	۳	[۳۹]
امپدانس و ولتامتری پالس تفاضلی	۰/۰۱ - ۱۰۰	سرم	۱/۲۵ و ۱/۸۲	[۴۰]
ولتامتری پالس تفاضلی	$10^{-6} \times 900$	بزاقت، خون و ادرار	$10^{-7} \times 3/33$	پژوهش حاضر

۳-۵- بررسی پایداری، تکرارپذیری، تکثیرپذیری و گزینش پذیری

جهت بررسی پایداری آبتاحسگر ساخته شده تعداد ۶۰ چرخه متوالی طی تکنیک ولتامتری چرخه‌ای به سطح آبتاحسگر اعمال شد. مقایسه نتایج مربوط به چرخه اول و چرخه ۶۰ حفظ کامل مقدار جریان سطح آبتاحسگر پس از اعمال ۶۰ چرخه متوالی را نشان می‌دهد (شکل ۴-ی)) که این امر پایداری الکتروشیمیایی آبتاحسگر را تایید می‌کند. ارزیابی پاسخ آبتاحسگر در انکوباسیون ۱ نانومولار از کاربامازپین توسط آبتاحسگر ساخته شده با سه بار تکرار مقدار انحراف استاندارد نسبی^۱ (RSD%) ۳/۱٪ را بدست آورد که تکرارپذیری رضایت‌بخش روش پیشنهادی را تایید می‌کند. سنجش ۵۰۰ نانومولار از کاربامازپین بر روی سطح سه آبتاحسگر ساخته شده به صورت مجزا مقدار انحراف استاندارد نسبی ۲/۲٪ بر اساس سه بار تکرار را ارائه می‌دهد که بیانگر تکثیرپذیری مورد قبول استراتژی پیشنهادی می‌باشد.

به منظور ارزیابی گزینش‌پذیری آبتاحسگر توسعه یافته نسبت به کاربامازپین، برخی از داروها به عنوان گونه‌های مداخله‌کننده احتمالی با ساختار یا خواص مشابه نسبت به کاربامازپین به طور جداگانه تحت شرایط بهینه مورد بررسی قرار گرفتند. پاسخ مربوط به منحنی‌های ولتامتری پالس تفاضلی ثبت شده در شکل ۵-الف) تا ی) ثابت می‌کند که گونه‌های کافئین (COF)، فلوفنازین (FLF)، ریتالین (RIT)، کتامین (KTM)، تریفلوپرازین (TFP) با غلظت ۱۰ نانومولار پاسخ قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با کاربامازپین (غلظت ۱ نانومولار) نشان نمی‌دهد. این نتایج گزینش‌پذیری بسیار خوب آبتاحسگر پیشنهادی در سنجش کاربامازپین را اثبات می‌کند.

¹ Relative Standard Deviation



شکل ۵. منحنی‌های ولتامتری پالس تفاضلی ثبت شده برای سنجش گونه‌های کافئین (COF)، ریتالین (RIT)، کتامین (KTM)، تریفلوپرازین (TFP) و فلوپنازین (FLF) با غلظت ۱۰ نانومولار در مقایسه با کاربامازپین با غلظت ۱ نانومولار توسط آنتاحسگر ساخته شده.

۳-۶- آنالیز نمونه حقیقی

به منظور ارزیابی امکان‌سنجی آنتاحسگر ساخته شده در تشخیص نمونه‌های واقعی کاربامازپین، نمونه‌هایی شامل سرم خون، ادرار و بزاق انسانی مطابق با بخش ۲-۶. آماده سازی نمونه ی حقیقی تهیه شد. همانطور که در جدول ۳- نشان داده شده است آنالیز آنتاحسگرهای انکوبه شده با نمونه‌های تهیه شده برای سه تکرار تحت شرایط بهینه، مقادیر RSD کمتر از ۳٪ را نشان می‌دهد که بیانگر تکرارپذیری قابل قبول روش پیشنهادی می‌باشد. علاوه بر این، مقادیر بازیابی محاسبه شده در محدوده ۱۰۰/۳۸٪ تا ۱۰۱/۵۵٪، کارایی رضایت بخش آنتاحسگر در سنجش کاربامازپین در نمونه‌های حقیقی انسانی بررسی شده را اثبات می‌کند. این نتایج رضایت بخش که نوید دهنده سنجش بسیار گزینش‌پذیر و غیرتهاجمی کاربامازپین در نمونه‌های انسانی می‌باشد به دو فاکتور عمده در ساخت آنتاحسگر نسبت داده می‌شود: (۱) استفاده از نانوکره‌های تو خالی طلا به عنوان یک زیر لایه مناسب و متخلخل برای اصلاح سطح الکتروود کربن شیشه‌ای و (۲) استفاده از آبتامر با ویژگی‌های ذاتی گزینش‌پذیری بسیار بالا نسبت به کاربامازپین.

۳-۷- بررسی شاخص سبز بودن روش پیشنهادی مطابق با اصول شیمی سبز

رعایت اصول شیمی سبز راهی برای تغییر نگرش‌ها و الگوها در ساخت دستگاه‌ها و تولید مواد شیمیایی به منظور حفظ توسعه پایدار می‌باشد. یافتن راهی مناسب برای ارزیابی شاخص سبز یک روش تجزیه ای چالش برانگیز است زیرا بسیاری از پارامترهای مختلف و جنبه‌های متنوع باید در نظر گرفته شوند. از آنجایی که اصطلاح شیمی سبز رویکردی برای در نظر گرفتن مسائل

زیست محیطی، بهداشتی و ایمنی در سراسر اقدامات عملی است، چندین رویکرد برای معیارهای سبز بودن فرآیندها در نظر گرفته می‌شود.

جدول ۳. آنالیز نمونه‌های حقیقی انسانی شامل سرم خون، بزاق و ادرار توسط آبتاحسگر ساخته شده

نمونه حقیقی	مقدار اضافه شده	مقدار بدست آمده	بازیابی	انحراف استاندارد نسبی
بزاق	فمتومولار ۵۰۰	فمتومولار ۵۰۳/۵۲	۱۰۰/۵۳	۰/۰۴
	پیکومولار ۵۰۰	پیکومولار ۵۰۱/۰۹	۱۰۰/۳۸	۰/۴۳
	نانومولار ۵۰۰	نانومولار ۵۰۳/۵۱	۱۰۰/۷۰	۰/۴۲
خون	فمتومولار ۵۰۰	فمتومولار ۵۰۰/۷۷	۱۰۰/۱۵	۰/۰۷
	پیکومولار ۵۰۰	پیکومولار ۵۰۲/۶۱	۱۰۰/۵۲	۰/۲۸
	نانومولار ۵۰۰	نانومولار ۵۰۳/۲۱	۱۰۰/۶۴	۰/۳۴
ادرار	فمتومولار ۵۰۰	فمتومولار ۵۰۷/۷۵	۱۰۱/۵۵	۰/۵۶
	پیکومولار ۵۰۰	پیکومولار ۵۰۲/۱۶	۱۰۰/۴۳	۰/۳۸
	نانومولار ۵۰۰	نانومولار ۵۰۴/۰۲	۱۰۰/۸۰	۰/۵۲

شاخص روش تجزیه ای سبز تکمیلی (ComplexGAPI) و رویکرد سبزی تحلیلی (AGREE) معمولا به عنوان دو معیار بین‌المللی جهت ارزیابی سبز بودن روش استفاده می‌شود. معیار ComplexGAPI برخی پارامترهای مهم از جمله خطرات، مقدار انرژی مصرف شده، مقدار ضایعات تولید شده، پروتکل آماده‌سازی نمونه، معرف‌ها و ابزار دقیق را ارزیابی کرده و با سه رنگ قرمز، زرد و سبز در یک پیکتوگرام ارائه می‌دهد. شاخص AGREE معیارهای ارزیابی را بر اساس دوازده اصل شیمی سبز در نظر می‌گیرد و خروجی آن به صورت یک دایره با رنگ‌های مختلف قرمز، زرد و سبز و عددی بین صفر تا ۱ است که هر چه این امتیاز به ۱ نزدیک‌تر باشد سبزی‌تر بودن روش پیشنهادی را تایید می‌کند. نتایج کلی ارزیابی استراتژی پیشنهادی با معیارهای ComplexGAPI و AGREE در پیکتوگرام‌های ارائه شده در شماتیک ۲-ج) و د) به ترتیب سبز بودن روش توسعه یافته با امتیاز بالا را تأیید می‌کنند. این نتایج رضایت بخش می‌تواند به استفاده از مصرف کم انرژی، مصرف حداقل مقدار حلال‌ها و معرف‌ها و همچنین استفاده از مواد زیست‌سازگار مانند آبتامر و طلا و ایجاد پاسخ بدون فرایند پیچیده نسبت داده شود [۴۱-۴۲].

۴- نتیجه گیری

به طور خلاصه، آبتاحسگر الکتروشیمیایی سبز و ساده برای تشخیص بسیار حساس و انتخابی کاربامازپین بر اساس الکتروود کربن شیشه‌ای اصلاح شده با نانوکره های تو خالی طلا و آبتامر طراحی و ساخته شد. نانوکره های تو خالی طلا نه تنها منجر به افزایش هدایت الکتریکی و افزایش جریان گردید بلکه یک بستر مناسب برای اتصال آبتامر بر روی سطح را ایجاد کرد. افزودن کاربامازپین بر روی سطح سنجش منجر به تغییر پاسخ الکتروشیمیایی فرو/فری‌سیانید به عنوان گونه کاوشگر الکتروشیمیایی شد و آبتاحسگر توانست کاربامازپین را در محدوده خطی دینامیکی از محدوده فمتومولار تا نانومولار با حد تشخیص بسیار کم نسبت به سایر

روش‌های گزارش شده پیشین اندازه‌گیری کند. کارایی آبتاحسگر برای سنجش کاربامازپین نه تنها در نمونه سرم خون بلکه در نمونه‌های ادرار و بزاق نیز بسیار خوب ارزیابی شد که سنجش غیرتهاجی کاربامازپین در نمونه‌های وکلنیک را نوید می‌دهد. استراتژی به کار رفته در این مطالعه بر اساس دو شاخص‌های بین‌المللی رایج مطابق با اصول شیمی سبز تشخیص داده شد. این روش نه تنها برای سنجش سایر گونه‌های هدف با تغییر توالی آبتامر مربوطه بر روی سطح امکان پذیر است بلکه پتانسیل بالقوه نانوکره‌های تو خالی با مزایای منحصر بفرد برای سایر مطالعات الکتروشیمیایی را نیز نوید می‌دهد.

۵- تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر توسط حمایت‌های مالی دانشگاه سمنان انجام شده است. نویسندگان از حمایت‌های دانشگاه سمنان و دانشگاه فرهنگیان برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌کنند.

۶- فهرست منابع و مآخذ

- [1] Alwafi, H. (2023). Trends in hospital admission related to poisoning by, narcotics and psychodysleptics and poisoning by antiepileptic, sedative-hypnotic, and antiparkinsonism drugs in England and Wales between April 1999 and April 2020: An ecological study. *Saudi Pharm J*, 31(8), 101670.
- [2] Grześk, G., Stolarek, W., Kasprzak, M., Grzes'k, E., Rogowicz, D., Wicin' ski, M., & Krzyż' anowski, M. (2021). Therapeutic Drug Monitoring of Carbamazepine: A 20-Year Observational Study. *J. Clin. Med*, 10, 5396.
- [3] Hosseini, S.H., & Ahmadi, A. (2015). Abuse potential of carbamazepine for euphorogenic effects. *Drug Research*, 65(4), 223-224.
- [4] Sullivan, G., & Davis, S. (1997). Is carbamazepine a potential drug of abuse. *Journal of Psychopharmacology*, 11(1), 93-94.
- [5] Degenhardt, L., Stockings, E., Patton, G., Hall, W. D., & Lynskey, M. (2016). The increasing global health priority of substance use in young people. *The Lancet Psychiatry*, 3(3), 251– 264.
- [6] Atkins, S., Sevilla, J.M., Blazquez, M., Pineda, T., & Gonzalez-Rodriguez, J. (2010). Electrochemical Behaviour of Carbamazepine in Acetonitrile and Dimethylformamide Using Glassy Carbon Electrodes and Microelectrodes. *Electroanalysis*, 22(24), 2961-2966.
- [7] Prpic, I. (2004). Analysis of antiepileptic drugs use at a university hospital in Croatia. *European Journal of Neurology*, 12, 483–485.
- [8] Gierbolini, J., Giarratano, M., & Benbadis. S. (2016). Carbamazepine-related antiepileptic drugs for the treatment of epilepsy - a comparative review. *Expert Opin Pharmacother*, 17(7), 885-888.
- [9] Behbahani, M., Najafi, F., Bagheri, S., Bojdi, M. K., Salarian, M., & Bagheri, A. (2013). Application of surfactant assisted dispersive liquidliquid microextraction as an efficient sample treatment technique

- for preconcentration and trace detection of zonisamide and carbamazepine in urine and plasma samples. *J. Chromatogr. A*, 1308, 25–31.
- [10] Datar, P. A. (2015). Quantitative Bioanalytical and Analytical Method Development of Dibenzazepine Derivative, Carbamazepine: A Review. *J. Pharm. Anal*, 5, 213–222.
- [11] Hu, L., Martin, H. M., Arce-Bulted, O., Sugihara, M. N., Keating, K. A., & Strathmann, T. J. (2009). Oxidation of Carbamazepine by Mn(VII) and Fe(VI): Reaction Kinetics and Mechanism. *Environ. Sci. Technol*, 43, 509–515.
- [12] Durán-Alvarez, J. C., Becerril-Bravo, E., Castro, V. S., Jiménez, B., & Gibson, R. (2009). The Analysis of a Group of Acidic Pharmaceuticals, Carbamazepine, and Potential Endocrine Disrupting Compounds in Wastewater Irrigated Soils by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Talanta*, 78, 1159–1166.
- [13] Marziali, E., Raggi, M. A., Komarova, N., & Kenndler, E. (2002). Octakis- 6-sulfato- γ -cyclodextrin as additive for capillary electrokinetic chromatography of dibenzoazepines: Carbamazepine, oxcarbamazepine and their metabolites. *Electrophoresis*, 23, 3020–3026.
- [14] Lee, S. H., Li, M., & Suh, J. K. (2003). Determination of Carbamazepine by Chemiluminescence Detection Using Chemically Prepared Tris- (2, 2'-bipyridine)- ruthenium(III) as Oxidant. *Anal. Sci*, 19, 903–906.
- [15] Goudarzy, F., Zolgharnein, J., & Ghasemi, J. B. (2022). Determination and Degradation of Carbamazepine Using G-C3N4@CuS Nanocomposite as Sensitive Fluorescence Sensor and Efficient Photocatalyst. *Inorg. Chem. Commun*, 141, 109512.
- [16] Dhanalakshmi, N., Priya, T., & Thinakaran, N. (2018). Highly Electroactive Ce-ZnO/RGO Nanocomposite: Ultra-Sensitive Electrochemical Sensing Platform for Carbamazepine Determination. *J. Electroanal. Chem*, 826, 150–156.
- [17] Lin, W. Y., Pan, M. L., Wang, H. Y., Su, Y. O., & Huang, P. W. (2012). Analysis of Carbamazepine Serum by Differential Pulse Voltammetry (DPV) and Comparison with Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA): An Animal Study. *Med. Chem. Res*, 21, 4389–4394.
- [18] Hassaninejad-Darzi, K., & Shajie, F. (2017). Fabrication of a Sensitive Electrochemical Sensor for Determination of Carbamazepine in Human Plasma Using ZSM-5 Nanozeolite. *Applied Chemistry Today*, 12(43), 121-136.
- [19] Chung, S., Singh, N.K., Gribkoff, V.K., & Hall, D.A. (2022). Electrochemical Carbamazepine Aptasensor for Therapeutic Drug Monitoring at the Point of Care. *ACS Omega*, 7, 43, 39097–39106.
- [20] Rashidi, L., & Noorbakhsh, A. (2018). Highly Sensitive Electrochemical Aptasensor for Determination of Mercury Ion Based on Graphene-Chitosan. *Applied Chemistry Today*, 13(48), 295-310.

- [21] Roosta, M., Ghaedi, M., Daneshfar, A., Sahraei, R., & Asghari, A. (2014). Optimization of the ultrasonic assisted removal of methylene blue by gold nanoparticles loaded on activated carbon using experimental design methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 1, 242-252.
- [22] Roosta, M., Ghaedi, M., Shokri, N., Daneshfar, A., Sahraei, R., & Asghari, A. (2014). Optimization of the combined ultrasonic assisted/adsorption method for the removal of malachite green by gold nanoparticles loaded on activated carbon: Experimental design. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 118, 55-65.
- [23] Miranshahi, Z., Asghari, A., Shahdost-Fard, F., Rajabi, M. (2025). A high-performance aptasensing interface based on pseudo-AuNBs@Ti3C2Tx MXene nanocomposite for non-invasive measurement of carbamazepine in human biofluids. *Microchimica Acta*, 192, 172.
- [24] Mohammadian, A., & Ebrahimi, M. (2020). Voltammetric determination of tert-Butylhydroquinone in food samples using carbon paste electrode modified with Au nanoparticle and ionic liquid. *Applied Chemistry Today*, 15(55), 289-298.
- [25] Divsar, F. (2020). Design of an optical sensor based on gold nanoparticles for detecting trace amounts of heavy metals in water samples. *Applied Chemistry Today*, 15(45), 217-226.
- [26] Gholinejad M., Zareh, F., Bonyasi, R., & Saadati, F. (2018). Stabilization of gold nanoparticles on copper ferrite and its application as bimetallic and magnetically recyclable catalyst for preparation of propargylamines. *Applied Chemistry Today*, 13(48), 153-166.
- [27] Schwartzberg, A.M., Olson, T.Y., Talley, Ch.T., & Zhang, J.Z. (2006). Synthesis, Characterization, and Tunable Optical Properties of Hollow Gold Nanospheres. *J. Phys. Chem. B*, 110, 19935-19944.
- [28] Pu, Y.C., Song, F., Zhang, W., Lindley, S., Adams, S., & Zhang, J.Z. (2017). Size-Tunable Synthesis of Hollow Gold Nanospheres through Control of Reaction Temperature. *Part. Syst. Charact.*, 34, 1600255.
- [29] Ding, H., Lv, J., Wu, H., Chai, G., & Liu, A. (2017). Enhanced light-harvesting by plasmonic hollow gold nanospheres for photovoltaic performance. *R. Soc. open sci*, 5, 171350.
- [30] Lindley, S.A., Cooper, J.K., Rojas-Andrade, M.D., Fung, V., Leahy, C.J., Chen, Sh., & Zhang, J. Z. (2018). Highly Tunable Hollow Gold Nanospheres: Gaining Size Control and Uniform Galvanic Exchange of Sacrificial Cobalt Boride Scaffolds. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 10(15), 1944-8244.
- [31] Shahdost-Fard, F., Faridfar, Sh., Keihan, A.H., Aghaei, M., Petrenko, I., Ahmadi, F., Ehrlich, H., & Rahimi-Nasrabadi, M. (2023). Applicability of a Green Nanocomposite Consisted of Spongin Decorated $\text{Cu}_2\text{WO}_4(\text{OH})_2$ and AgNPs as a High-Performance Aptasensing Platform in *Staphylococcus aureus* Detection. *Biosensors*, 13(2), 27.
- [32] Roushani, M., & Shahdost-fard, F. (2017). Ultra-sensitive detection of ibuprofen (IBP) by electrochemical aptasensor using the dendrimer-quantum dot (Den-QD) bioconjugate as an immobilization platform with special features. *Materials Science and Engineering: C*, 75, 1091-1096.

- [33] Zhou, Sh., Xu, L., Liu, L., Kuang, H., & Xu, Ch. (2020). Development of a monoclonal antibody-based immunochromatographic assay for the detection of carbamazepine and carbamazepine-10, 11-epoxide. *J. Chromatogr B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 114, 122036.
- [34] Pirogov, A.V., Gandlevskii, N.A., Vasil'eva, A.A., Barsegyan, S.S., & Nosyrev, A.E. (2023). Highly Sensitive Determination of Carbamazepine and Oxcarbazepine and Identification of Their Degradation Products in Material Evidences and Human Cadaveric Liver by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Anal. Chem*, 78(6), 783-793.
- [35] Cabarcos-Fernández, P., Taberero-Duque, M.J., Álvarez-Freire, L., & Bermejo-Barrera, A.M. (2024). Determination of Topiramate and Carbamazepine in Plasma by Combined Dispersive Liquid–Liquid Microextraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Separations*, 11(2), 51.
- [36] Chen, N., Yuan, Y., Lu, P., Wang, L., Zhang, X., Chen, H., & Ma, P. (2021). Detection of carbamazepine in saliva based on surface-enhanced Raman spectroscopy. *Biomedical Optics Express*, 12, 12, 7673-7688.
- [37] Cetin, A., Özbek, O., & Erol, A. (2023). Development of a potentiometric sensor for the determination of carbamazepine and its application in pharmaceutical formulations. *Chemical Technology and Biotechnology*, 98(4), 890-897.
- [38] Ghalkhani, M., Marzi Khosrowshahi, Sohoul, E., Eskandari, K., Aghaei, M., Rahimi-Nasrabadi, M., Sobhani-Nasab, A., Banafshe, H., & Kouchaki, E. (2022). Electrochemical monitoring of carbamazepine in biological fluids by a glassy carbon electrode modified with CuO/ZnFe₂O₄/rGO nanocomposite. *Surf. Interfaces*, 30, 101943.
- [39] Chung, S., Singh, N.K., Gribkoff, V.K., & Hall, D.A. (2022). Electrochemical Carbamazepine Aptasensor for Therapeutic Drug Monitoring at the Point of Care. *ACS Omega*, 7(43), 39097-39106.
- [40] Płotka-Wasyłka, J., & Wojnowski, W. (2021). Complementary green analytical procedure index (ComplexGAPI) and software. *Green Chem.*, 23, 8657.
- [41] Madani-Nejad, E., Shokrollahi, A., & Shahdost-Fard, F. (2024). Central composite design-assisted visual and non-invasive detection of sertraline by sweet lemon waste-derived core-shell AuNPs@CDs. *Analytical Chimica Acta*, 342721.
- [42] Ghiasi, M., Ghanbarzadeh, M., Ghaffarinejad, A., & Shahdost-Fard, F. (2025). Green nitrogen and sulfur co-doped carbon dots derived from eggshell as a high performance aptasensing interface for non-invasive detection of metronidazole. *Talanta*, 285, 127363.

