عامل دار کردن نانو تیوب های اسیدی چند دیواره با ترکیبات دی آزو حاصل از آمین های آروماتیک و مطالعه اثرات ضد سرطانی آن ها بر رده سلولی SW742 در شرایط invitro

سعید حیدری کشل[1]، مهدیه انتظاری[2*]، ملک حکمتی[2]، احمد ناصر[3]، سمیه سلیمانی[3]

1) مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران
2) گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم داروئی تهران
3) گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: 91/11/23 تاریخ پذیرش: 92/2/18

چکیده

مقدمه: یکی از علل عمده مرگ و میر در تمام جهان سرطان است. با وجود پیشرفت علم و تکنولوژی، بشر هنوز در درمان قطعی این بیماری ناکام مانده است. کشف خواص شگفت انگیز بیولوژیک نانو تیوب های کربنی باعث شد تا آن ها کاندیدای خوبی برای مطالعه بر روی سلول های سرطانی باشند و از آن جا که عامل دار کردن باعث بهبود خواص و اصلاح نانو تیوب ها می شود، عامل دار کردن آن ها با ترکیبات مختلف مورد توجه قرار گرفت. از آن جا که بسیاری از ترکیباتی که در شیمی داروئی مطرح می شوند از خانواده دی آزو هستند در این مقاله سعی کردیم تا نانو تیوب های چند دیواره دارای عامل اسیدی را با ترکیبات دارای گروه دی آزو عامل دار کنیم.

مواد و روش ها: همه محصولات به وسیله طیف سنجی Raman, FT-IR و SEM تایید شده اند. سپس محصولات به کمک روش MTT بر روی لاین سلولی SW742 مورد بررسی قرار گرفتند و توان زیستی سلول ها در غلظت های مختلف بررسی شد.

یافته های پژوهش: بررسی ها نشان داد که توان زیستی سلول های سرطانی در حضور نانو تیوب های عامل دار شده به مقدار قابل ملاحضه ای کاهش می یابد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد که ترکیبات حاصل می توانند کاندیدای مناسبی برای ساخت داروهای موثر در درمان سرطان روده باشند.

واژه های کلیدی: کربن نانو تیوب، سرطان روده، عامل دارکردن

***نویسنده مسئول:** گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم داروئی تهران

Email: mahdiehentezari63@yahoo.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

مقدمه

دومین سرطان شایع در تمام جهان سرطان روده است،(2-1). با این که سال هاست مطالعات فراوانی در مورد این بیـــماری انجـــام می شـــود اما هـــم چنان انسان های بسیاری در جهان از ایـــن بیـــماری رنج می برند. داروهای شیمی درمانی اغلب با مقاومت داروئی مواجه می شود و سمیت بالایی دارد. بنا بر این دانشمندان به دنبال تهیه داروهای اثر گذار هستند. از آن جا که نانو تیوب ها خـــواص شگـــفت انـــگیز و فوق العاده ای در ضمینه های مختلف دارند، دانشمندان سعی کردند تا از آن ها در تهیه کاندیدهای داروهای ضد سرطان استفاده کنند. نانو تیوب های چند دیواره (MWNTs) ترکیبات کارآمدتری از نانو تیوب های تک دیواره در مطالعات سرطان بودند زیرا می توانستند رشد سلول های سرطانی را تخریب کنند.(3)

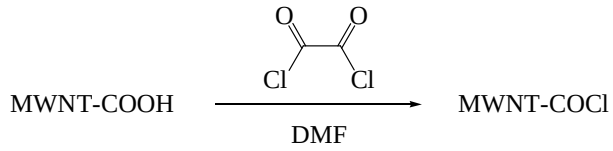
خواص نانو تیوب های چند دیواره با عامل دار شدن به وسیله ترکیبات شیمیایی اصلاح می شود و سمیت نانو تیوب ها کاهش می یابد. ترکیبات آلی که در آن ها گروه دی آزو وجود دارد خواص بیولوژیک گسترده ای دارند،(4). بنا بر این انتظار می رود تا خواص ضد سرطان نانو تیوب های چند دیواره به کمک آن ها اصلاح شود، بنا بر این نانو تیوب ها را به کمک آن ها عامل دار کردیم. در این مقاله آمین های آروماتیک به نمک دی آزونیوم تبدیل شدند و سپس با کوپل شدن به فنول ترکیبات دی آزو حاصل آمد که به کمک آن ها نانو تیوب های چند دیـــواره اســـیدی عامل دار شدند. این نانو تیوب های اصلاح شده بر روی سلولهای سرطان روده با لاین سلولی SW742 تست شدند. نتایج Viability مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

طیـــف هـــای IR محصـــولات با استفاده از اسپکترومتر Nexus 870 FT-IR بر روی قرص KBr گزارش گردیده اند. طیف های Raman محصولات با استفاده از اسپکترومتر (Thermo spectra 960 ES, Nicolet) گزارش گردیده اند. از محصولات توسط میکروسکوپ الکترونی SEM مدل(XL30 Philips) عکسبرداری شد. مواد اولیه و حلال های مورد نیاز از شرکت های مرک و فلوکا و نوترینو تهیه شد و بدون خالص سازی بیشتر مصرف شد.

کلردار کردن نانو تیوب چند دیواره اسیدی به وسیله اگزالیل دی کلراید

حدود 40 میلی گرم از نانو لوله اســـیدی با 50 سی سی DMF برای 45 دقیقه سونیکیت شد سپس 5 سی سی اگزالیل کلراید تحت گاز نیتروژن در دمای صفر درجه سانتی گراد قطره قطـــره به مخـــلوط اضـــافـــه شد و بـــرای 2 ســـاعـــت بـــهم زده شـــد سپـــس دمـــای مخـــلوط به 70 درجه ســـانتی گراد رسیـــد تـــا اگـــزالیل اضافی خـــارج شـــود سپـــس محـــصول در دمـــای اتـــاق فیـــلتر شد و با THF شستشو داده شد.(5)(شکل شماره1)

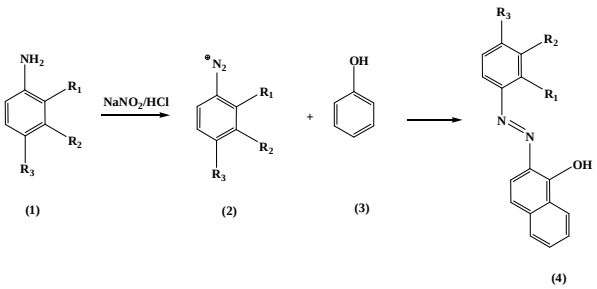


شکل شماره 1. روش کلردارکردن نانوتیوب اسیدی چند دیواره

سنتز ترکیبات دی آزو

به مخلوطی از$HCl/NaNO_2$، 0/5 گرم از آمین آروماتیک در دمای صفر درجه سانتی گراد اضافه شد. نمک دیازونیوم تهیه شده به فنول کوپل شد و برای دو ســـاعـــت در دمـــای اتـــاق هـــم زده شـــد سپس محصـــول فیلـــتر شـــد و پـــس از شستـــــشو با آب در دمـــای اتـــاق به مـــــدت 12 ســـاعت خـــــشک شـــد.(8-6)(شکل شماره 2)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

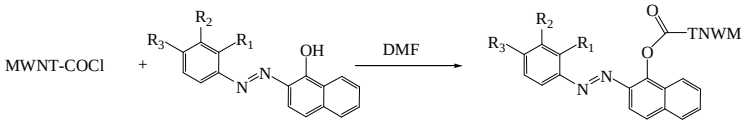


Name	R_1	R_2	R_3
4a			H
4b	H	H	

شکل شماره 2 . روش تهیه ترکیبات دی آزو از آمین های آروماتیک

عامل دار کردن با ترکیبات دی آزو به روش استری

15 میلی گرم از نانو لـــوله کلره شده را در 30 سی سی DMF به مدت 30 دقیقه سونیکیت می کنیم تا یک مخلوط کاملا همگن به دست بیاید. 0/25 گرم از ترکیب دی آزو تهیه شده به سوسپانسیون فوق در دمای 0 درجه سانتی گراد اضافه شد. این مخلوط برای دو ســـاعت در دمـــای صفر بهـــم زده شد و سپس برای 72 ســـاعت در دمای اتاق رفلاکس شد. سپس مخلوط فیلتر شد و با THF و استون شستشو داده شد. یک مخلوط سیاه رنگ نتیجه واکنـــش بود کـــــه بعد از فیلتـــر خلاء برای دو روز در دمای اتاق خشـــک شد.(شکل شماره 3)



شکل شماره 3. عامل دار کردن نانو لوله های چند دیواره کلره شده با ترکیبات دی آزو

یافته های پژوهش

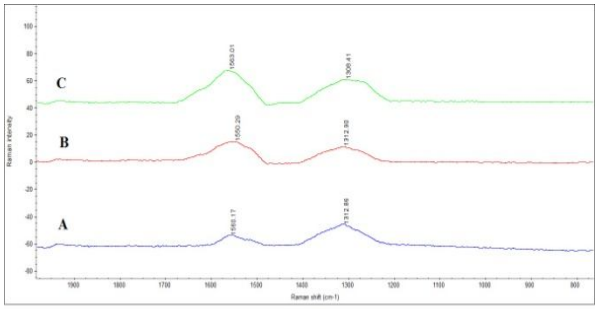
طیفFT-IR یکی از ابزار مهم برای تشخیص عامل دار شدن در نانو تیوب هاست،(11-9). بررسی جایگاه گروه کربونیل، و بررسی ایجاد عامل C-O در محصولات تاییـــد مناســـبی برای عـــامل دار کردن نانو تیوب های اسیدی است.

MWNTCOOH (A): black solid, IR (KBr): vmax 3733 (CH), 2910(C-C), 1704(C=O) cm-1.
MWNTCO-4a (B): black solid, IR (KBr): vmax 3318 (CH), 2867 (C-C), 1726(C=O), 1134 (C-O), 9865-896 (Aromatic C-H) cm-1.
MWNTCO-4b (C): black solid, IR (KBr): vmax 3312 (CH), 2981 (C-C), 1734(C=O), 1139 (C-O), 820(Aromatic C-H) cm-1.

بررسی طیف رامان

طیف سنجی رامان ابزار مهمی برای مشخص کردن ساختارهای نانو تیوبی است و اطلاعات ساختاری عملی درباره نانو تیوب های اسیدی چند دیواره قبل و بعد از عامل دار شدن می دهد. دو پیک مشخص برای نانو تیوب های چند دیواره وجود دارد که باند D در اطراف 1300 cm-1 و باند G در اطراف 1500 cm-1. پیک های D و G نانو تیـــوب مـــربوط به نقـــص ها، پیک های القاء شده نامنظم و مد مماسی نانو تـــیوب می باشد. در طیف رامان ماده اولیه پیک حدود 1300 در شدت کمتری نسبت به پیک حـــدود 1500 دیده می شود. اما در ماده نهایی پیک حدود 1500 شدت کمتری یافته است که نشان دهنده تغییر آروماتیسیته در نانو لوله است. هم چنین نسبت(ID/IG) مربوط به افزایش شدت باند D و G بوده و به عنـــوان دلیلی بر افـــزایـــش در شـــــدت مـــد نقـــصی مربـــوط بـــه هیبریداسیون SP^3 کـــربن می باشـد و تـــاییدی بر عامل دارشدن نانو تیوب توسط مولکول های متصل شده است.(17-12)(شکل شماره 4)

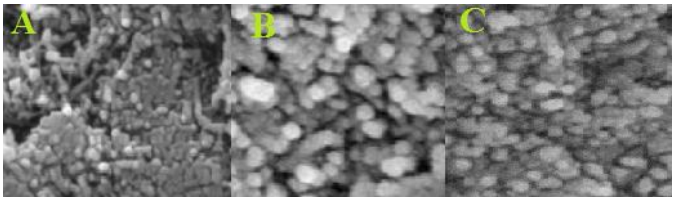
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]



شکل شماره 4. طیف رامان نانو تیوب اسیدی چند دیواره(A) ونانو تیوب های چند دیواره عامل دار شده(B,C)

تصاویرSEM

در پژوهش های مربوط به خواص مواد نانوساختاری، میکروسکوپ الکترونی یکی از مهم ترین و پرکاربردترین دستگاه هایی است که مورد استفاده قرار می گیرد. مدرک دیگر برای عامل دار شدن نانو تیوب چند دیواره تصاویر میکروسکوپی الکترونی SEM است. در شکل شماره 5 تصاویر SEM مربوط به نانو لوله اسیدی و محصولات عامل دار شده نشان داده شده است. مطابق با شکل به نظر می رسد که محصولات از نظر مورفولوژی نسبت به نانو تیوب کربن اسیدی خشن تر شده اند و این موضوع عامل دار شدن را تایید می کند.(۱۹،۱۸)



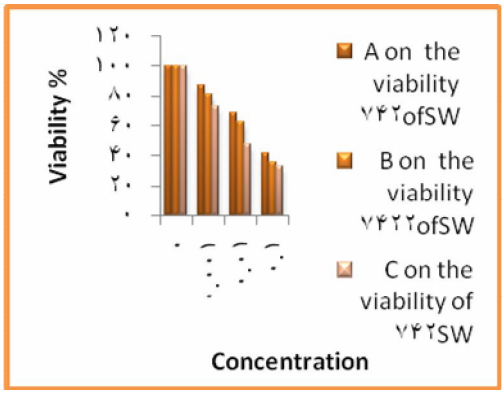
شکل شماره 5.تصاویر SEM نانو تیوب اسیدی چند دیواره(A) و نانو تیوب های چند دیواره عامل دار شده(B,C)

آزمون توان حیاتیMTT

آزمایش MTT برای اولین بار توسط Mosmann ابداع شد. مطالعات نشان داده است که این آزمایش می تواند به عنوان معرفی برای تکثیر سلولی در پاسخ به عوامل مختلف از قبیل هورمون رشد، داروهای ضد سرطان و نظایر آن مورد استفاده قرار گیرد. با افزودن محلول MTT که حاوی نمک های زرد رنگ تترازولیوم هستند به مخلوط حاوی سلول های سرطانی و داروی ضد سرطان، سلول های سرطانی زنده مانده با انجام فعالیت های متابولیسمی میتوکندریایی قادر به شکستن نمک تترازولیوم و تبدیل آن به ترکیب ارغوانی رنگ فرمازان می باشند. طول موج جذبی فرمازان، در 570 نانومتر بوده که با انحلال آن در حلال های آلی مانند DMSO و با استفاده از تکنیک اسپکتروفتومتری میزان فرمازان تولید شده، اندازه‌گیری می شود. بدین ترتیب مقدار سلول های سرطانی زنده مانده که متناسب با مقدار فرمازان تولید شده می باشد به وسیله OD اندازه گیری شده محاسبه می گردند و در نتیجه میزان تاثیر داروی ضد سرطانی بر فعالیت سلول های سرطانی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

از مقایسه نتایج آزمون MTT بر سلول های سرطان روده که در مجاورت غلظت های مختلف از نانو تیوب های چند دیواره عامل دار که در DMSO حل شدند و در دمای 37 درجه سانتی گراد همراه با 5 درصد گاز دی اکسید کربن قرار گرفتند مشخص گردید که سلول های سرطانی به میزان قابل ملاحضه ای توان زیستی خود را از دست داده اند و می توانند کاندیدای مناسبی برای ساخت داروهای ضد سرطان روده باشند.(نمودار شماره 1)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]



نمودار شماره 1. اثر نانو تیوب اسیدی چند دیواره(A) و نانو تیوب های چند دیواره عامل دار شده(B,C) در چهار غلظت متفاوت بر توان زیستی سلول های SW742

بحث و نتیجه گیری

در این مقاله ما سعی کردیم تا با استفاده از خواص شگفت آور نانو تیوب های چند دیواره ترکیباتی را تهیه کنیم که بتوانند کاندید مناسبی برای تهیه داروهای ضد سرطان باشند. از آن جا که به کمک عامل دار کردن می توانیم خواص زیستی نانو تیوب های چند دیواره را افزایش دهیم، توانستیم تا آن ها را به کمک ترکیبات دی آزو عامل دار کنیم. نتایج بررسی توان زیستی این ترکیبات بر رده سلولی SW742 رضایت بخش بود. امیدواریم که روزی بیماری وحشت انگیز سرطان در تمام دنیا ریشه کن شود و شاید تکنولوژی نانو و قدرت عجیبی که خداوند در ابعاد نانو نهادینه کرده است بتواند در این بین موثر واقع گردد.

سپاسگزاری

در پایان وظیفه خود می دانیم که از حمایت های مالی و پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران نهایت تشکر را داشته باشیم.

References

1-Goldberg RM, Sargent DJ, Morton RF, Fuchs CS,Ramanathan RK, Williamson SK, et al. A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 2004;22:23-30.

2-Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer statistics. CA Cancer J Clin 2008;58:71-96.

3-Zhang Z, Yang X, Zhang Y. Delivery of telomerase reverse transcriptase small interfering RNA in complex with positively charged single-walled nanotubes suppresses tumor growth. Clin Cancer Res 2006;12: 4933-9.

4-Swarnkar P. Synthesis and antibacterial activity of some new phenothiazine deriveatives. J Chemi 2007;4:14-20.

5-Azizian J, Tahermansouri H, Biazar E, Heidari S, Chobfrosh-Khoei D. Functionalization of carboxylated multiwall nanotubes with imidazole derivatives and their toxicity investigations. Int J Nanomed 2010;5:907-14.

6-Fieser H, Blangey L. Fundamental proceesses of dye chemistry. Inter Science Publishers: NewYork; 1931.P.126-8.

7-Pandey VK, Negi HS. Synthesis and boilogical activity of some new. Benzophenothiazines. Indian J Chem (B) 2003;42: 206-11.

8-Chaudhary M, Pareek D, Ojha K, Pareek G. Synthesis and antibacterial activity of 1-(2-Diazo-6-ethoxybenzothiazolyl) substituted benzene derivatives. Int J Curr Chem 2010;1:175-9.

9-Kuan HC, Ma CM, Chang WP, Yuen SM, Wu HH, Lee TM. Synthesis, thermal, me-chanical and rheological properties of multiwall carbon nanotube/waterborne polyurethane nanocomposite. Compos Sci Technol 2005;65:1703-10.

10-Stevens JL, Huang AY, Peng H, Chiang IW, Khabashesku VN, Margrave JL. Sidewall amino-functionalization of single-walled carbon nanotubes through fluori-

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

nation and subsequent reactions with terminal diamines. Nano Lett 2003;3:331-6.
11-Peng H, Alemany LB, Margrave JL, Khabashesku VN. Sidewall carboxylic acid functionalization of single-walled carbon nanotubes. J Am Chem Soc 2003;125: 15174-82.
12-Dettlaff-Weglikowska U, Benoit JM, Chiu PW, Graupner R, Lebedkin S, Roth S. Chemical functionalization of single walled carbon nanotubes. Appl Phys 2002;2;497-501.
13-Hamon MA, Hu H, Bhowmik P. End-group and defect analysis of soluble single-walled carbon nanotubes. Chem Phys Lett 2001;1:347-8.
14-Jorio A, Saito R, Dresselhaus G, Dresselhaus MS. Determination of nanotubes properties by Raman spectroscopy. Physic Engineer Sci 2004;362:2311-36.
15-Rao AM, Richter E, Bandow S, Chase B, Eklund PC, Williams KA, et al. Diameter-selective Raman scattering from vibrational modes in carbon nanotubes. Science 1997;275:187-91.
16-Dresselhaus MS, Dresselhaus G, Saito R, Jorio A. Raman spectroscopy of carbon nanotubes. Phys Lett 2005;409:47-99.
17-Thomsen C, Reich S, Maultzsch J. The physical meaning of the conjugation length in polymers. Mathemat Phys Engineer Sci 2004;362:2337-59.
18-Zheng M, Jagota A, Strano MS, Santos AP, Barone P, Chou SG. Structure-based carbon nanotube sorting by sequence-dependent DNA assembly. Science 2003;302: 1545-8.
19-Yang ST, Guo W, Lin Y, Deng X, Wang H, Sun H, et al. Biodistribution of pristine single-walled carbon nanotubes in vivo. J Phys Chem 2007;111:17761-4.

Functionalization of Carboxylated Multi Walled Nanotubes With Diazo Compounds of Aromatic Amins and anti Cancer Study on SW742 Cell Line By Invitro Conditions

Heydari Keshal S[1], Entezari M[2], Hekmati M[2], Naser A[3], Soleimani S[3]*

(Received: 11 Feb. 2013 Accepted: 8 May. 2013)

Abstract

Introduction: One of the leading causes of death around the world is cancer. Despite the advances in science and technology, man has still failed to cure the disease. The discovery of amazing biological properties of carbon nano tubes caused that they would be good candidates for the research on cancer cells. Functionalization of carbon nanotubes is known to improve their properties. Many compounds that have applications in medicinal chemistry have diazo group. In this paper, we tried to functionalize MWNT-COOH with diazo compounds.

Materials & Methods: Modification was confirmed by FT-IR, Raman and SEM spectroscopy. The products were tested on colon cancer cells (SW742) by MTT assay. Viability of the colon cancer cells was investtigated in different concentrations of the functionalized products.

Findings: The results demonstrated that the viability of cancer cells was profoundly decreased in the presence of the functionnalized nanotubes.

Discussion & Conclusion: Our results revealed that the functionalized nanotubes could be a suitable candidate for the synthesis of effective drugs on colon cancer.

Keywords: carbon nanotube, colon center, functionalization

1. Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Dept of Chemistry, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Dept of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Ilam, University of Medical Sciences, Ilam, Iran
** (corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]