بررسی سمیتی نانوتیوبهای کربنی چند دیواره عامل دار شده با مشتق اکساتیازول و فنیل هیدرازین تهیه شده با امواج مایکروویو

سعید حیدری کشل¹؛ حسن طاهرمنصوری²؛ مائده اتقایی²؛ اسماعیل بی آزار³، فریبا سیفی پور⁴ ، موید عوض پور⁴ ، فاروق کاظم بیگی⁴

1) کمیته تعقیقات دانشبویی، مرکز تعقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران 2) گروه شیمی ، واعد آیت الله آملی ، دانشگاه آزاد اسلامی آمل 3) گروه فنی و مهندسی ، واعد تنکاین ، دانشگاه آزاد اسلامی تنکاین

4)گروه بهداشت مدیط ، دانشکده بهداشت ،دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت:

تاريخ پذيرش:

چکيده

مقدمه: امروزه نانوتیوبهای کربنی عامل دار شده مورد استفاده فراوانی در پزشکی یافته اند، نظیر رشد هدایت شده نرونها بر روی نانوتیوبهای کربنی چند دیواره عامل دار شده، در این میان تحقیقات گسترده ای بر روی عامل دار کردن نانوتیوبهای کربنی صورت گرفته است که می توان به استری کردن، افزایش رادیکالهای آزاد و آمید دار کردن اشاره کرد. عامل دار کردن نانوتیوبهای کربنی تحت شرایط مایکروویو سریعتر و موثرتر از روشهای معمول می باشد.

مواد و روش ها: در این تحقیق ، عاملی دار کردن شیمیایی نانوتیوبهای کربنی چند دیـواره کربوکـسیل دار شـده (MWNT-COOH) را با متیل 2-(2- آمینو - 4 اکسو تیازول – (4H)- ایلیـدین)اسـتات (MWNT-COOH) در شرایط مایکروویو بررسی نموده. سپس نانولوله های کربنی آمید دار شده (MWNT-Amide) از طریق واکنش با فنیـل هیدرازین در مدت 20 دقیقه مشتق تیازول را بر روی نانوتیوبها تولید کردند کـه توسط طیف سـنجی Raman ، IR ، SEM آنالیز عنصری و TGA تایید گردیدند.

یافته های پژوهشی: اثر نانوتیوبهای عامل دار شده سنتیتیک، بر روی سلولها در شرایط In-Vitro مورد بررسـی قرار گرفت. نتایج سلولی سمیت بالایی را برای MWNT-Thiazole نسبت به دیگر نمونه ها از خود نشان داد.

بحث و نتیجه گیری: متیل 2- (2- آمینو - 4 - اکسو تیازول - 5(4H) – ایلیدین) استات و مشتق تیازول بر روی نانوتیوب های کربنی عامل دار شده و به وسیله تصاویر Raman ، FT-IR ، SEM، آنالیز عنصری ، TGA مورد تایید قرار گرفت با این عاملی دار کردن سایت های فعال برای واکنش های بیولوژیک فارماکوژنیک آینده فراهم گردید.

واژه های کلیدی: نانوتیوب های کربنی ، فنیل هیدرازین ، مایکروویو ، سمیت

Email: h.tahermansuri@iauamol.ac.ir

نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

مقدمه

کشف نانوتیوبهای کربنی چند دیواره در سال 1991[1] فعالیتهای گسترده ای را در اکثر زمینه های علمی و مهندسی به خاطر خواص شیمیایی، حاملهای دارویی ، سنسور و درمان سرطان ایجاد کرد[2-3]. بویژه عامل دار کردن شیمیایی نانوتیوبهای کربنی می تواند خواص شیمیایی و فیزیکی آنها را تغییر بدهد که آن منجر به توسعه و پیشرفت عملکردشان برای زمینه های خاص می گردد. عامل دار کردن شیمیایی نانوتیوبهای کربنی، اتصال گونه های شیمیایی بر روی سطح آنهاست که می تواند با داروهای ضد سرطان توسط گروههای عاملی مرتبط شود. نانوتیوبهای کربنی عامل دار شده مورد استفاده زیادی قرار گرفته اند. برای نمونه، رشد نرونها بر روی نانوتیوبهای کربنی چند دیواره عامل دار شده مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین آن تایید شده که انتشار ژن از طریق نانوتیوبهای کربنی عامل دار شده تا 10 برابر از DNA تنها بالاتر است. بنابراین تحقیقات گسترده ای بر روی عامل دار کردن نانوتیوبهای کربنی صورت گرفته است که می توان استری کردن [4] افزایش رادیکالهای آزاد[5] و آميد دار کردن [6-8] را مي توان نام برد.

همچنین چندین مقاله مروری در این زمینه منتشر شده است[9-10]. از طرفی عامل دار کردن نانوتیوبهای کربنی تحت شرایط مایکروویو سریعتر و موثرتر از روشهای معمول می باشد. از آنجاییکه در روشهای گرمایی کنترل دقیق دما و زمان واکنش مورد نیاز می باشد، ما تصميم به استفاده از تابش مايكروويو براي عامل دار کردن نانوتیوبهای کربنی گرفتیم. در این تحقيق، ما عاملي دار كردن شيميايي نانولوله هاي کربنی چند دیواره کربوکسیل دار شده را با متیل 2-(2- آمينو - 4 اكسو تيازول – (4H) - ايليدين)استات و فنیل هیدرازین در شرایط مایکروویو بررسی کردیم. این عامل دار کردن شامل دو مرحله است. مرحله اول آمید دار کردن می باشد که این واکنش در یک مرحله کامل می گردد از آنجاییکه در روشهای معمول دو مرحله لازم است (مرحله آسیل کلرید در اینجا حذف می گردد). مرحله دوم شامل واکنش -MWNT Amide با فنیل هیدرازین به منظور تولید مشتق تيازول (MWNT-Thiazole) بر روی نانوتيوب کربنی می باشد. همچنین نتایج سلولی نشان داد که سمیت MWNT-Amide بيشتر از MWNT-Thiazole می باشد. مسیر سنتزی نانوتیوبهای عامل دار شده در شکل 1 نشان داده شده است.



شکل 1. مسیر سنتزی MWNT-COOH عامل دار شده

مواد و روش ها

همه واکنشگرها و حلالها (فنیل هیدرازین Merck و Merck از شرکت شیمیایی Merck و 20-30 nm (95% خالص ، 20-30 ، کمپانی Netvino) خریداری وبه کار برده شده است. متیل 2- (2- آمینو- 4– اکسو تیازول– 5(4H) – ایلیدین) استات از واکنش تیواوره با دی متیل استیلن ایلیدین) استات از واکنش تیواوره با دی متیل استیلن دی کربوکسیلات (DMAD) [11] فراهم شده است. طیف سنج KBr با به کار بردن قرص های KBr روی طیف سنج Thermo Nicolet Nexus 870 FTIR

ثبت شده است. طیف رامان روی طیف سنج ثبت شده است. طیف رامان روی طیف سنج VARIAN-CARY 100 الکترونی پویشی یا SEM به منظور بررسی مورفولوژی سطح نانوتیوبهای کربنی استفاده شد. اندازه گیری SEM با میکروسکوپ الکترونی فیلیپس XL30 به SEM با میکروسکوپ الکترونی فیلیپس XL30 به انجام رسیده است. آنالیزهای عنصری کربن ، هیدروژن و نیتروژن توسط2400 (II) SERIES از کمپانی انجام رسیده است. و نیتروژن توسط2400 (II) SERIES از کمپانی انالیزهای وزن سنجی گرمایی نمونه ها با NETZSCH TG 209 F1 Iris) در X2 (01درجه سانتی گراد بردقیقه) صورت گرفت. تهیه MWNT-Amide

مخلوطی از 100 میلی گرم MWNT-COOH میلی گرم MWNT-COOH میلی گرم آمین ، متیل 2-(2- آمینو - 4 اکسو تیازول – (4H) - ایلیدین) استات، در 20 میلی لیتر دی متیل فرمامید (DMF) به مدت 30 دقیقه در مجاورت اشعه فرا صوت قرار داده می شود تا سوسپانسیون یکنواختی تولید گردد. سپس مخلوط حاصله به مدت 25 دقیقه در توان 800 وات و فشار 8 بار تحت امواج مایکروویو قرار داده می شود. پس از این مدت، مخلوط مایکروویو قرار داده می شود. پس از این مدت، مخلوط در دمای اتاق سرد شده و با DMF، اتیل الکل و THF شسته می شود. سپس جامد سیاه رنگ در دمای اتاق به مدت 6 ساعت تحت شرایط خلاء خشک میگردد.

تهيه MWNT-Thiazole

در 20 میلی گرم MWNT-Amide در 20 میلی لیتر DMF به مدت 5 دقیقه تحت امواج فرا صوت قرار داده می شود تا سوسپانسیون همگنی بدست آید.

265

سپس 4 میلی لیتر فنیل هیدرازین به مخلوط اضافه شده و تحت شرایط مایکروویو (مطابق بالا) قرار داده می شود. بعد از سرد شدن در دمای اتاق، مخلوط واکنش جدا شده و عمیقاً توسط THF شسته می شود. سپس جامد حاصله توسط آون خلاء به مدت 6 ساعت خشک می گردد.

آناليز سلولى

USSC ها سلول بنیادی پر توان بوده وبه عنوان جمعیت سلولی نادر در خون بند ناف مورد بررسی قرار می گیرند. USSC ها از یک پتانسیل بالا برای ایجاد تمایز و تکثیر برخوردارند(13). بنابر این آنها به عنوان منبع ارزشمند در درمان سلولی مد نظر قرار می گیرند. پودر ها ی کنترل (TCPS) به صورت مناسب پاکسازی شده و از طریق متد اتوکلاو استریل شدند. سوسپانسیون سلولهای USS به یک فلاسک 25cc حاوی 5mg از Dulbecco,s در محیط اصلاح شده Eaglesو سرم جنيني گاوي (FBS) 10% منتقل شد . سپس این سوسپانسیون در یک محل کشت (37 درجه سانتی گراد و 5% CO2) قرار داده شد. بعد از آن آنزیم تریپسین /EDTA به فلاسک (4 درجه سانتی گراد) افزوده شد و فلاسک برای مدت 2 دقیقه در آن محل خوابانیده شد. محیط کشت (FBS/DMEM) به فلاسک افزوده شد و سلولها به آرامی با پیپت خارج شدند. سوسپانسيون سلول به يک لوله فالکون جدید(15cc) منتقل شد و برای 5 دقیقه سانتریفیوژ گردید.این محلول کنار گذاشته شد و رسوب به یک فلاسک جدید (25cc)جهت کشت مجدد منتقل گردید. بخش هایی از کشت سلول (1×1 cm) از ظرف (کنترل) و نمونه اصلی به طور مجزا در یک کنترل و به خوبی توسط به کار بردن یک گیره استریلیزه شده قرار داده شدند. cells/well 100000 از 24 ظرف کشت سالم دانه افشانی شدند و سپس بر روی نمونه های اصلی و شاهد پاشیده شدند. سپس همه نمونه ها در انکوباتور(Memmert)در 37 درجه سانتی گراد برای 48 ساعت قرار داده شدند و توسط میکروسکوپ ceti (آزمایشگاه ولف، بریتانیا) مورد مطالعه قرار گرفتند. تکثیر سلول از طریق ارزیابی MTT برای تعداد سلولهای قابل رشد تعیین شد. کمیت محصول فرمازان

به طور مستقیم متناسب با تعداد سلولهای قابل رشد در محیط کشت می باشد. ارزیابی ها با افزودن 1ml از محلول MTT و 9ml محیط تازه برای هر یک بعد از مکش مورد نظر و قرار دادن در 37 درجه سانتی گراد به مدت 4 ساعت در شرایط حفاظت از نور ، صورت گرفت.مقیاس کلرومتری (رنگ سنجی) از رنگ فرمازان در یک طول موج mn 570 با استفاده از یک شاخص میکروپلیت Rayto اجرا شد.

یافته های پژوهش:

شکل 2 طیفهای FT-IR مربوط به نانوتیوب های کربنی عاملی دار شده را نشان می دهد. در طیفMWNT- COOH ، پیک در -1531 cm امربوط به باندهای دوگانه می باشد که چارچوب بدنه نانوتیوب را تشکیل می دهند.



شکل2. طیف FT-IR مربوط به نانوتیوبهای عامل دار شده

شاهد بیشتر برای عاملی دار کردن-MWNT COOH استفاده از طیف رامان میباشد که به عنوان وسیله ای قدرتمند جهت شناسایی نانوتیوب کربنی عاملی دار شده به کار می رود. عموماً نوارهای aloc 1580)G و Cm-1 (1330-1350) و cm-1 (1330-1350) والقا شده (Bangential mode) نامنظم نسبت داده می والقا شده (Disorder mode) نامنظم نسبت داده می

شوند، را می توان به طور واضح برای هر دو نانوتیوب MWNT-COOH و MWNT-Thiazole مشاهده کرد [12] ، که در شکل 3 نشان داده شده است. علاوه بر این نسبت (ID/IG) در -MWNT MWNT-Thiazole و MWNT-Amide COOH به ترتیب 1/03, 1/22 و 1/22 بدست آمد.



شکل 3. طیف رامان مربوط به نانوتیوبهای کربنی عامل دار شده

شده در مقایسه با نانوتیوب اولیه تشکیل گونه های آلی بر روی نانوتیوب کربن را تایید می کند. بر اساس این داده ها و با فرض این که درصدهای اتمی نیتروژن ، هیدروژن و سولفور از متیل 2- (2- آمینو - 4- اکسو تیازول -5(44)- ایلیدین) استات و فنیل هیدرازین ناشی شده است، ما عاملی دار شدن -MWNT را تایید کردیم. نتایج آنالیز عنصری در جدول 1 ، نشان داده شده است.صرف نظر از مقادیر کربن ، تغییرات درصد اتمی H (1/14%) و N(1/53%) وS (1/93%) مربوط به ترکیب MWNT-Amide و H (1/82%) و MWNT-COOH (در مقایسه با MWNT-COOH) نشان می Thiazol (در مقایسه با MWNT-COOH) نشان می دهد که نانوتیوب عاملی دار شده است. از طرفی دیگر افزایش درصد H و N و S برای دو نانوتیوب عامل دار

ی کربنی عامل دار شد	انوتيوب هاي	ىنصرى ن	ً . أناليز ع	جدول 1
MWNT	C%	H%	N%	S%
MWNT-COOH	95/8	0/23	0/00	0/00
MWNT-Amide	84/31	1/14	1/53	1/93
MWNT-Thiazole	83/47	1/82	3/14	2/01

267

در شکل 4 تصاویر میکروسکوپ الکترونی پویشی (SEM) مربوط به MWNT-COOH ، MWNT-COOH و Amide نشان داده شده است.

در تصویر (SEM) مربوط به MWNT-COOH ، به نظر میرسد که سطوح یکنواخت نانوتیوب ها نسبتاً صاف هستند.



MWNT-Thiazole

MWNT-Amide

MWNT-COOH



شکل 5 اطلاعات کمی در خصوص عاملی دار کردن نانوتیوب ها از طریق به کار بردن نتایج TGA فراهم می کند.از آنجاییکه MWNT-COOH تقریباً از لحاظ گرمایی پایدار هستند (با توجه به شکل 5)،

کاهش وزن از تجزیه نانوتیوب ها می تواند برای تخمین مقدار گروههای مختلف متصل شده به نانوتیوب به کار برده شود.



شکل 5. منحنی TGA از نانوتیوب های عاملی دار شده در N2 (10 درجه سانتی گراد بر دقیقه)

تصاویر سلولی وآنالیز MTT یک سنجش رنگ سنجی روش MTT assay یک سنجش رنگ سنجی جهت اندازه گیری احیای 3- (4و5- دی متیل تیازول -2- ایل)-2و5- دی فنیل تترازولیوم برماید (MTT) زرد رنگ توسط میتوکندریال سوکسینات دهیدروژناز محسوب می شود. MTT در هنگام ورود به سلول و عبور از میتوکندری به محصول بنفش رنگ و نامحلول فرمازان کاهیده می شود. سپس سلولها در یک حلال آلی (DMSO) حل می شوند. واکنشگر آزاد شده

فرمازان به روش اسپکتروفوتومتری اندازه گیری می شود. از آنجاییکه احیای MTT تنها می تواند در سلولهای فعال متابولیکی رخ دهد لذا سطح فعالیت می تواند معیاری از بقای سلولی باشد.جدول 2 نتایج آنالیز MTT را برای نمونه های TCPS(کنترل) و نمونه های MWNT را برای نمونه های MWNT-(کنترل) و نمونه سمیت بالای نمونه MWNT-Thiazole (26%) را نسبت به MWNT-Amide (26%) نشان می دهد. شکل 6 تصاویری از کشت سلولی روی نانو پودرها و دیگر نمونه ها داشته و مرگ قابل توجهی از بافت سلولی را به دنبال دارد. کنترل را نشان می دهد. این تصاویر نشان می دهد که نمونه MWNT-Thiazole سمیت بالایی نسبت به

MTT نمونه ها	جدول 2. أناليز
--------------	----------------

Sampel	OD	Viability%	Toxicity%
TCPS	257	100	0
MWNT-COOH	251	98	2
MWNT-Amide	241	94	6
MWNT-Thiazole	204	74	26



شکل6 . رشد سلولی بر روی نمونه ها شکل 6. تصاویر میکروسکوپی و اثر سمیتی مربوط به نانوتیوبهای کربنی عامل دار شده . الف) نمونه کنترل ، ب) نانوتیوب های کربنی کربوکسیلیک دار ، ج) نانوتیوب های کربنی عاملی دار شده با امید ، د) نانوتیوب های کربنی عاملی دار شده با تیازول.

بحث و نتیجه گیری

ظهور پیکهای جذبی در 1-m 1727 و 1047 و 1047 ، به طور واضح گروههای کربوکسیلیک اسید را روی نانوتیوب های کربنی معرفی میکند. دو باند -2800 1000 cm-1 می شود را می توان مربوط به H-D کششی نقص های -WWNT سه توان مربوط به H-D کششی نقص های -WWNT سه COOH نسبت داد. در طیف MWNT-Amide سه (Amide B)1681، (Amide A)1648 سه پیک جدید در B)1648 (Amide A)1648 می و 1710 (C=O استر) مشاهده می گردند که نشان می دهد آمین به طور موفقیت آمیزی به سطح خارجی نانوتیوب های کربنی متصل شده است(در مقایسه با

طیف آمین و MWNT-COOH). در طیف -MWNT Thiazole، پیک آمید (B) ناپدید شده و پیک قابل توجهی در اطراف 1-E4 مشاهده می گردد که میتوان آن را به آمید(A) نسبت داد. پیکها در اطراف میتوان آن را به آمید(A) نسبت داد. پیکها در اطراف 1400 - 1530، 1540 - 1580، 2000 - 1400 1200 ، 3500 - 1000 - 100 را می توان به ترتیب 1200 مد های کششی H-N و H-O، مد های کششی C=C مربوط ساخت. از این نتایج می توان دریافت که MWNT-COOH به طور موفقیت آمیزی با مشتق تیازول عاملی دار شده است. شاهد

دیگر برای عاملی دار کردن MWNT-COOH استفاده از طیف رامان میباشد که ابزاری قدرتمند جهت تشخیص نانوتیوب کربنی عاملی دار شده به شمار می ايد. نوارهاي G (1560-1560) و D (1330-1350) cm-1 که به ترتیب به پیکهای مد مماسی والقا شده نامنظم نسبت داده می شوند، را می توان به طور واضح برای هر دو نانوتیوب MWNT-COOH و -MWNT Thiazole مشاهده کرد. نسبت (ID/IG) در MWNT-, MWNT-Amide MWNT-COOH Thiazole به ترتيب 1/03، 1/22 و 1/23 بدست آمد. این افزایش در شدت باند D به هیبریداسیون SP3 کربن نسبت داده می شود و به عنوان شاهدی بر قطع سیستم آروماتیکی الکترونهای π به دلیل اتصال مولکولها ، به کار می رود. به عبارت دیگر این نشان می دهد که یک تخریب جزئی در ساختار مزدوج جداره نانوتيوب به خاطر اتصال مشتق تيازول صورت گرفته است. در آنالیز میکروسکوپ الکترونی (SEM) مربوط به MWNT-COOH ، به نظر میرسد که سطوح يكنواخت نانوتيوب ها نسبتاً صاف هستند. با عاملي دار ، MWNT-Thiazole , MWNT-Amide , كردن یک لایه لوله مانند یکنواختی از ترکیبات آلی (مشتق آمین وتیازول) به طور واضح بر روی سطح -MWNT COOH (بخش ضخیم) ایجاد می گردد و در نتیجه قطر نانوتیوب های عاملی دار شده به طور اندکی در مقایسه با MWNT-COOH افزایش می یابد. این نتایج تایید می کند که ترکیبات آلی ایجاد شده از طریق پیوند کووالانسی برروی MWNT قرار گرفته است. در نمودارهای TGA مربوط به -MWNT

به طور خلاصه ، متیل 2- (2- آمینو - 4 - اکسو تیازول - 5(4H) – ایلیدین) استات و مشتق تیازول را بر روی نانوتیوب های کربنی معرفی کردیم. این مشتق به وسیله تصاویر Raman ، FT-IR ، SEM، آنالیز عنصری ، TGA مورد تایید قرار گرفت با این عاملی دار کردن سایت های فعال برای واکنش های آینده فراهم گردید. همچنین نتایج سلولی نشان داد که نمونه فراهم گردید. همچنین نتایج سلولی نشان داد که نمونه نمونه ها دارد.

سپاسگزاری

مقاله حاظر بر گرفته از پایان نامه مقطع دکتری می باشد و بدین وسیله مراتب قدر دانی خود را از مرکز تحقیقات پروتئومیکس بیان می دارد.

References

1-Iijima S, Ichihashi T. Nature 1993; 363: 603-.

2-Reich S, Thomsen C, Maultzsch J. Carbon Nanotubes. Wiley–VCH: Berlin. 2010.

3-Ajayan PM. Chem Rev 1999;99:1787-99. 4-Hamon MA, Hui H, Bhowmik P, Itkis ME, Haddon RC. Appl Phys A 2002; 74; 333-8.

5-Liu J, Rodriguez I, Zubiri M, Vigolo B, Dossot M, Fort Y, Ehrhardt JE. Carbon 2007;45:885-91.

6-Azizian J, Tahermansouri H, Biazar E. Int J Nanomed 2010;5:907-14.

- 7-Azizian J, Chobfrosh D, Tahermansouri H, Yadollahzadeh K. Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures 2011;19:753-60.
- 8-Tahermansouri H, Chobfrosh D, Meskinfam M. Oriental J Chem 2011;27: 499-504.

9-Sun YP, Fu K, Lin Y, Huang W. Acc Chem Res 2002;35: 1096.

10-Tasis D, Tagmatarchis N, Bianco A,
Prato M. Chem Rev 2006;106:1105-36.
11-Hendrickson JB, Rees R, Templeton JF.
J Am Chem Soc 1964;86:107-11.
12-Hiura H, Ebbesen TW, Tanigaki K.
Chem Phys Lett 1993;202:509-12.

Evaluation of Multi-walled Carbon Nanotubes Cytotoxicity Elements Oxathiazole and Phenyl hydrazine Derivative was prepared by Microwave

Heidari keshel S1, Tahermansuri H2*, etteghaei M2, Biazar E3, Saifipour F4, Avazpour M4, Kazembeigi F4

(Received:

Accepted:)

Abstract

Introduction: Since carbon nanotubes (CNTs) were discovered by Iijima in 1991, it opened up new opportunities in the field of molecular electronics, sensoring, composite materials, drug delivery system and cancer therapy. Application of CNTs in drug delivery systems is being investigated actively because of their useful combination of size and physicochemical properties.

Matherials& Methods: Significant factor in our study, multiwall carbon nanotubes by chemical carboxyl labeled (MWNT-COOH) with methyl 2 - (2 - amino - 4 oxo Thiazole - (H4) - Alidin) acetate ((MWNT-Amide in terms of microwave said. then, carbon nanotubes amide labeled (MWNT-Amide) by reaction with phenyl hydrazine in 20 minutes derived Thiazole on nanotubes produced by spectroscopy IR, Raman, SEM, elemental analysis, and TGA was Also examined the effect of the nanotubes on cells.

Finding: Results are highly toxic to cells than other samples of MWNT-Thiazole showed.

Discussion & Conclusion: fictionalization of groups is very effective for toxicity reduction of MWNT that can be used for conjugate to drugs or biochemically materials.

Key words: Nanotubes, Phenyl hydrazine, Microwave, Cytotoxicity

1.Student Research committee, Proteomics Research Center, Faculty of paramedical sciences, Shahid Beheshti University of medical sciences, Tehran, Iran

 $2. Dept \ of \ Chemistry, \ Islamic \ Azad \ University, \ Ayatollah \ Amoli \ Branch, \ Amol \ , \ Iran$

3.Dept of Chemistry, Tonekabon Branch , Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

4.Dept of Environmental Health, Faculty of Health, Ilam University of medical sciences, Ilam, Iran *(corresponding author)

Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences

13-Keshel SH, Soleimani M, Tavirani MR,

Ebrahimi M, Raeisossadati R, Yasaei H, et al. Evaluation of unrestricted somatic stem

cells as a feeder layer to support

undifferentiated embryonic stem cells. Mol

Reprod Develop. 2012;79:709-18.

