****

**عنوان :**

**سنتز نانوذرات پلیمری به عنوان حامل سیلیبینین (Silibinin) استخراج شده از گیاه خار مریم(Silybum marianum) و بررسی اثرات نوروتروفیک و آنژیوژنیک بر روی سلول های غلاف کننده بویایی(OEC) موش صحرایی در شرايط گلوكز نرمال و بالا**

به طور خلاصه، ساختار نانو پلیمر سنتز شده با استفاده از روش‌های طیف‌سنجی مختلف مانند IR، HNMR، GPC، DLS و AFM مشخص شد. به هر حال در این مطالعه برای بدست آوردن مقدار ظرفیت بارگذاری کوپلیمر از روش HPLC استفاده شد. هدف اصلی مطالعه ما تعیین غلظت قرار گرفتن در معرض اثرات سیتوتوکسیک و محافظ سیلیبینین و نانوذرات سیلیبینین در OECs در شرایط طبیعی و گلوکوتوکسیسیتی بود. نتایج ما ممکن است پیامدهای مهمی برای دستکاری دارویی عوارض ریز عروقی دیابت داشته باشد. با این حال، فعالیت‌های حفاظتی غلظت‌های پایین سیلی‌بینین و نانوذرات سیلی‌بینین با غلظت‌های بالا مخالف هستند. یافته‌های ما نشان می‌دهد که سطوح محافظ سلولی سیلی‌بینین و نانوذرات-سیلیبینین تقریباً از محدوده غلظت سیتوتوکسیک آن در OEC کمتر است. مکانیسم‌های مولکولی دقیقی که توسط آن‌ها سیلی‌بینین و نانوذرات-سیلی‌بینین اثرات محافظتی سلولی و/یا سیتوتوکسیک خود را اعمال می‌کنند، هنوز به‌طور کامل در OEC‌ها مشخص نشده‌اند. نتایج ما نشان داد که اثرات محافظتی سیلیبینین و نانوذرات-سیلیبینین در برابر استرس هیپرگلیسمی در OECs ممکن است به مهار آن از تشکیل ROS داخل سلولی و تولید NO نسبت داده شود. علاوه بر این، افزایش بیان ILK و VEGF در شرایط گلوکوتوکسیسیته حفظ شده است، در حالی که بیان پروتئین‌های BDNF و NGF در این شرایط کاهش یافته است. مکانیسم‌های مذکور با غلظت‌های بالای سیلی‌بینین و نانوذرات-سیلیبینین کاملاً معکوس شدند. به نظر می رسد که سیلیبینین و نانوذرات سیلیبینین، حداقل تا حدی، عمل خود را با تعدیل بیان ILK که با تنظیم بیان VEGF، BDNF، NGF و تولید NO و ROS همراه است، اعمال می کند. علاوه بر این، تا جایی که ما می دانیم، این اولین گزارش در مورد بیان بیش از حد ILK و اینتگرین بتا-1 ناشی از HG در سلول های اندوتلیال انسان است.

**خلاصه مراحل مطالعه**

1. سنتز نانو پليمر اوليه از موادي مانند سيتريك و گليسرول و اولئيك اسيد به روش ترمال و اثبات ايجاد پيوند از طريق تكنيك هاي IR ,H NMR , CNMR
2. تعيين وزن مولكولي پليمر در هر مرحله از سنتز توسط تكنيك GC Mass
3. اثبات قرار گرفتن دارو در سيستم پلسمري توسط تكنيك هاي UV-Vis , HPLC
4. تعيين اندازه نانو ذرات در هر مرحله DLS , Zeta
5. تعيين درصد بار گذاري دارو توسط تكنيك HPLC , UV-Vis
6. تعيين شكل ، مرفولو‍ژي و اندازه نانو ذرات در هر مرحله SEM , TEM , AFM
7. بررسي ميزان حیات سلولی و اثر بخشي اين سنتز در مرحله آزمايشگاهي برون سلولي با MTT( به صورت in vitro )
8. بررسی میزان رادیکال های آزاد در مرحلهذ آزمایشگاهی به روش فلویمتری
9. بررسي ميزان اثر بخشي در موش هاي سرطاني به صورت in vivo با تعيين سايز تومور

پس از سنتزنانو ذرات پليمري محلول در آب و تعيين خواص فيزيكي و شيمايي نانوذرات مانند مراحل بالابا استفاده از دستگاهي ذكر شده اندازه سايز و ديگر خصوصيات تعيين مي شود.

سپس با توجه به پاركترهاي زمان بهم زدن، مقدار نانو ذرات، دما وحجم نانو ذرات براساس نرم افزار ميني تب ( Box- behnken dising) شرايط انجام آزمايش و تعداد آزمايش هاي لازم طراحي مي شود و پس از آن استخراج نمونه از فاز روغني( هگزان نرمال) در حجم مشخصي از فاز آبي حاوي نانوذرات انجام ميگيرد. به اين ترتيب كه نمونه هاي استاندارد با غلظت مشخص از تركيبات استاندارد تهيه مي شود و حجم مشخص به فاز هگزان نرما به حجم 2 ميلي ليتر اضافه ميگردد پس از زمان مشخص و دماي مشخص در اولتراسونيك قرار مي گيرد تا نمونه به فاز آبي انتقال يابد و سپس به وسيله ميكرو سرنگ جدا شده و در دستگاهHPLC تزريق مي شود .شرايط استخراج از قبيل فاز متحرك و pH كاملا بهينه مي شود و نسبت فاز متحرك به وسيله حلالهاي مانند استونيتريل، متانول، بافرفسفاتي تعينن مي شود و در طول موج مشخص فلو ريت دستگاه مشخص مي گردد.پس از انجام ازمايش هاي طراحي شده شرايط بهينه به دسـ آمده گه سپس ارقام شايتگي لازم براساس منجني كاليبراسيون براي هر نمونه و ديگر ارقام از قبيل حد تشخيص ، شيب، تكرار پذيري درون روز و برون روز به سيلهANOVA ي مورد بررسي قرار مي گيرد و در نهايت با توجه به تهيه نمونه هاي حقيقي از گونه هاي مورد نظر صحت ورش مورد بررسي قرار مي گيرد.