

Preparation and Evaluation of a Niosomal Drug Delivery System Containing Cefazolin and Study of Its Antibacterial Activity

Atiyeh Shirvany¹, Ali Hossein Rezayan^{1*} , Hale Alvandi¹ , Mohammad Barshan Tashnizi¹ , Hossein Sabahi¹ 

1. Division of Nanobiotechnology, Department of Life Science Engineering, Faculty of New Sciences & Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran

doi [10.30699/ijmm.15.6.638](https://doi.org/10.30699/ijmm.15.6.638)



ABSTRACT

Background and Aim: Infectious diseases are one of the leading causes of death in the world. The use of antibiotics, in addition to limitations and side effects, causes the resistance of microorganisms. The use of drug delivery systems is an effective way to increase drug stability and reduce antibiotic use. This study aimed to load cefazolin into a niosomal drug delivery system.

Materials and Methods: This study was performed in 2018 to investigate the effect of span 60, tween 60, and cholesterol on the synthesis of niosome nanoparticles loaded with cefazolin by the thin layer hydration method. Then the characteristics of synthetic niosome nanoparticles and their antibacterial activity were investigated.

Results: Scanning electron microscope (SEM) images showed that all nanoparticles are spherical. The encapsulation efficiencies for the first, second, and third formulations were 33%, 19.7%, and 40.76%, respectively. The release of cefazolin from the first, second, and third formulations during 30 days was 48%, 81.5%, and 63%. The particle size and zeta potential of the third niosome formulation were estimated to be 154 nm and -24 mV. The MIC for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were 4 and 150 µg/mL, respectively. The niosome nanoparticles prepared with the third formulation show an excellent antibacterial effect against *Escherichia coli* for six days, and the diameter of its growth inhibition zone remains almost constant.

Conclusion: The optimal formulation of niosome nanoparticles included span 60 (0.060), tween 60 (0.090), and cholesterol (0.046). Continuous and controlled release of cefazolin from the niosome, along with increased drug penetration, reduces the growth of *E. coli* (ATCC 9637) and *S. aureus* (ATCC 12600).

Keywords: Antibiotic, Cefazolin, Controlled drug delivery, Infectious diseases, Niosome

Received: 2021/08/06;

Accepted: 2021/11/06;

Published Online: 2021/12/08

Corresponding Information:

Ali Hossein Rezayan, Division of Nanobiotechnology, Department of Life Science Engineering, Faculty of New Sciences & Technologies, University of Tehran, Tehran, Iran, Email: ahrezayan@ut.ac.ir



Copyright © 2021, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usages with proper citation.



Use your device to scan and read the article online

Shirvany A, Rezayan A H, Alvandi H, Barshan Tashnizi M, Sabahi H. Preparation and Evaluation of a Niosomal Drug Delivery System Containing Cefazolin and Study of Its Antibacterial Activity. Iran J Med Microbiol. 2021;15(6):638-657.

Download citation: [BibTeX](#) | [RIS](#) | [EndNote](#) | [Medlars](#) | [ProCite](#) | [Reference Manager](#) | [RefWorks](#)

Send citation to:  [Mendeley](#)  [Zotero](#)  [RefWorks](#)

1. Introduction

Infectious diseases are recognized as one of the leading causes of death worldwide for all ages. Gastrointestinal, respiratory, genital, and nosocomial infections are the leading causes of death in developing countries (1, 2). About a century ago, the advent of antibiotics led to advances in the treatment of infectious diseases. However, the use of antibiotics

has limitations, such as improper concentration of the drug at the site of infection and some side effects. Their widespread use and abuse have also led to problems such as the resistance of microorganisms to antibiotics (1, 3). Among resistant microorganisms, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant *Enterococcus*, vancomycin-resistant *S.*

aureus, penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*, and *Escherichia coli* are among the common infections. Among these bacteria, the incidence and mortality of *S. aureus* and *E. coli* are significantly higher (3).

Various mechanisms have been proposed to explain bacterial resistance to antibiotics. Mechanisms of resistance of these bacteria include altered porins, increased expression of concentration-dependent pumps, the altered structure of the target site of antibiotics, and beta-lactamase production (4, 5). The antibiotic cefazolin from the cephalosporins group is active against a wide range of gram-positive bacteria and some gram-negative bacteria. This antibiotic prevents the synthesis of peptidoglycan. In recent years, antibiotic resistance has also developed in this group. In addition, the half-life of this drug is low in plasma (6, 7).

One way to combat antibiotic resistance is to use nanocarriers. By maintaining the structure of the drug, nanocarriers increase stability, increase uptake, modify the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the drug, and increase cell penetration. The desired therapeutic effect is achieved by improving the bioavailability at low concentrations, which will reduce side effects and concentration-dependent toxicity. Also, with targeted drug delivery, the site of infection receives the maximum amount of drug, and the optimal antimicrobial effect is created. The advantages of nanocarriers include the possibility of continuous and controlled drug release, which can reduce antibiotic resistance (4, 8). One of the most critical nanocarriers in drug delivery is the niosome nanosystem; Niosomes are non-ionic surfactant vesicles composed of cholesterol and other lipids. With its two parts, hydrophilic and hydrophobic, this nanosystem can contain drug molecules with different solubilities. Niosomic surfactants are biocompatible and biodegradable (9-12). Niosomes are used as nanocarriers to deliver drugs, vaccines, and genes (13). Doxorubicin-containing niosomes provide long-term drug release and do not cause pulmonary side

effects in mice. This nanocarrier doubles the antitumor activity of the drug (14). Niosome is also suitable for controlled ocular delivery of water-soluble topical antibiotics such as gentamicin (15). Niosomes loaded with antibiotics such as azithromycin, clarithromycin, and cefixime were also synthesized using cholesterol with various surfactants (16).

Among the factors influencing the preparation of niosomes are the nature and structure of surfactants, cholesterol content, and the ratio of compounds used in their manufacture. Due to the increasing use of cefazolin in treating bacterial infectious diseases and the continuation of the authors' research on previously published drug delivery systems (17-19), this study aimed to prepare niosomal nanoparticles loaded with cefazolin with three different formulations and compare antibacterial activity.

2. Material and Methods

Niosome Preparation

This experimental study was performed in 2018. According to previous studies, the formulation of niosome nanoparticles was prepared using three surfactants, span 60, tween 60, and cholesterol (Merck, Germany) (20-22). Table 1 shows the three formulations of niosome nanoparticles. These materials were dissolved in 10 mL of chloroform and stirred in a balloon connected to a rotary evaporator (55°C and 120 rpm). After 90 minutes under vacuum, a white layer formed on the bottom of the balloon. To prepare nanoparticles loaded with cefazolin, 10 mL of phosphate-buffered saline (PBS) containing cefazolin was added after placing the balloon in a vacuum at 55°C and 55 rpm. After 40 minutes, a white layer formed on the bottom of the balloon. The nanoparticle suspension was then placed in a 150-watt sonicator for 4 minutes to reduce the size of the formed niosomes (22). Figure 1 shows a schematic representation of the preparation of niosomal nanoparticles.

Table 1. Formulations for the preparation of niosome nanoparticles.

Material	Amount (g)	Ratio	Concentration (μmol/mL)
First formulation			
Span 60	0.043	25%	9.915
Tween 60	0.064	25%	9.915
Cholesterol	0.077	50%	19.83
Second formulation			
Span 60	0.0516	30%	11.98
Tween 60	0.077	30%	11.86

Material	Amount (g)	Ratio	Concentration ($\mu\text{mol/mL}$)
Cholesterol	0.061	40%	21.76
Third formulation			
Span 60	0.060	35%	13.93
Tween 60	0.090	35%	13.86
Cholesterol	0.046	30%	11.89

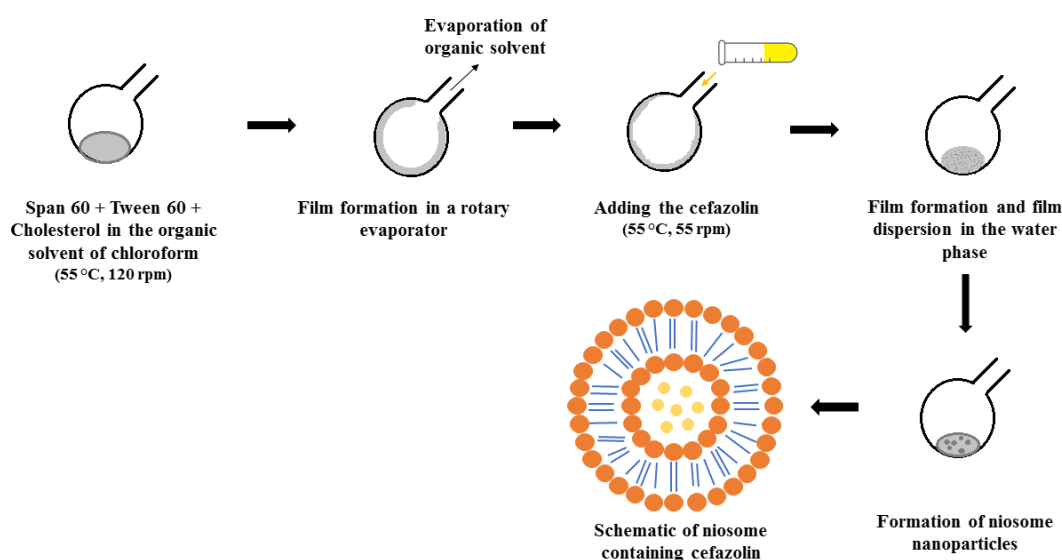


Figure 1. Schematic diagram of thin layer preparation of niosome.

Characterization of Nanoparticles

Nanoparticle Morphology

SEM image determined the morphology of niosomal particles. For this purpose, some of the samples were first placed on the lamel, and after drying, the sample was layered with gold. The niosome sample is non-conductive, and low voltage is adjusted to produce the image.

Size and Zeta Potential of Nanoparticles

A dynamic light scattering (DLS) device was used to investigate nanoparticles' size and zeta potential. In a solution, the collision of particles and small molecules with solvent molecules leads to the random motion of the molecules. The motion of small particles in a fluid is called Brownian motion. The zeta potential of the vesicles plays an important role in the function of the niosome in the body and shows its stability. The amount of zeta potential is checked with a zeta sensor. The zeta potential is the surface potential of a colloidal particle moving in an electric field (23). After the synthesis of nanoparticles, the prepared sample was passed through a 0.02 μm filter, and analysis was

performed with the device (SZ-100z Dynamic Light Scattering & Zeta potential analyzer - Horiba-France).

To evaluate the stability of nanoparticles, the surface charge of the niosome after 18 days and 1 month was examined by a zeta sizer.

Drug Release and Encapsulation Efficiency

Of niosome solution containing cefazolin, 1 mL was poured into a dialysis bag and then placed in 70 mL PBS. The sample was then placed in a shaker incubator at 37°C and 80 rpm. Sampling was performed in the first 6 hours every hour and then 24 and 48 hours. Sampling was also performed on days 10 and 30. In each sample, 600 μL of PBS was removed and replaced with 600 μL of isothermal PBS. To evaluate the concentration of released cefazolin, the uptake of cefazolin at 270 nm was measured using UV-Vis spectroscopy (24).

To evaluate the encapsulation efficiency (EE), 1 mL of the nanoparticles suspension was poured into a dialysis bag and placed in 100 mL PBS. After 24 hours, the absorption of the drug was assessed by UV-Vis spectroscopy (270 nm). Then, according to formula

(1), the drug loading percentage was calculated (23, 25):

$$EE (\%) = \frac{(\text{amount of drug added to the formulation} - \text{amount of free drug})}{\text{amount of drug added to the formulation}} \times 100$$

Eq.1

Microbial Evaluation

Gram-negative *E. coli* (ATCC 9637) and Gram-positive *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 12600) were obtained from the Faculty of New Science and Technology, University of Tehran. These bacteria were cultured on Müller-Hinton agar medium (Merck, Germany). After culturing the bacteria for 24 hours, 0.5 McFarland solution was prepared, used in experiments.

MIC Assay

Nutrient broth culture medium (Merck, Germany), 1 mg/mL solution of cefazolin, and 0.5 McFarland concentration of *S. aureus* and *E. coli* were prepared first. Concentrations of 1, 3, 4, 5, 10 µg/mL of nanoparticles for *E. coli* and concentration of 10, 20, 30, 40, 50, 100, 150, 200 µg/mL for *S. aureus* in culture medium were prepared. The bacterial solution was then added to the well. Finally, the plates were placed in a shaker incubator at 37°C and 80 rpm.

Disk Diffusion Assay

After culturing each bacterium on Müller-Hinton agar medium, three wells with a diameter of 8 mm were made in the medium. In the wells, cefazolin and nanoparticles without drugs were poured as a control. In the third well, drug-loaded niosomes were added. The culture media were incubated for 16 hours at 37°C. Then the diameter of the growth inhibition zone was measured on days 1, 2, 3, and 6 (26).

3. Results

Investigation of Nanoparticle Morphology with SEM Microscope

SEM microscope images in Figure 2 show that the morphology of niosomic nanoparticles with the first, second, and third formulations was spherical, and there was no significant difference in the shape of the niosomes. The size of these nanoparticles was measured between 200 and 300 nm.

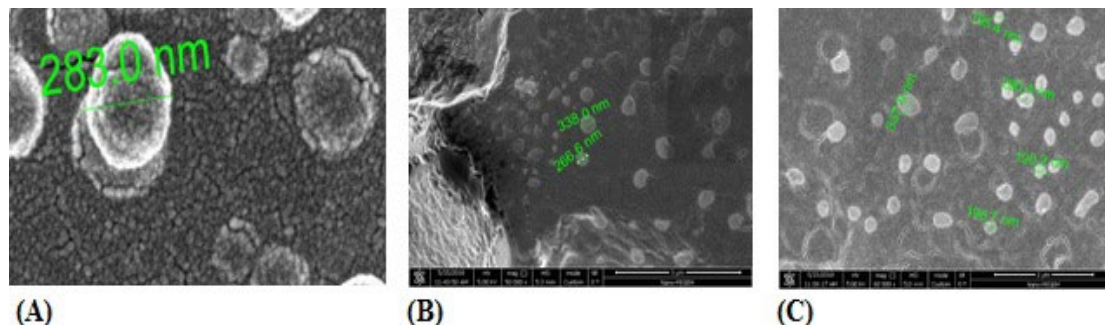


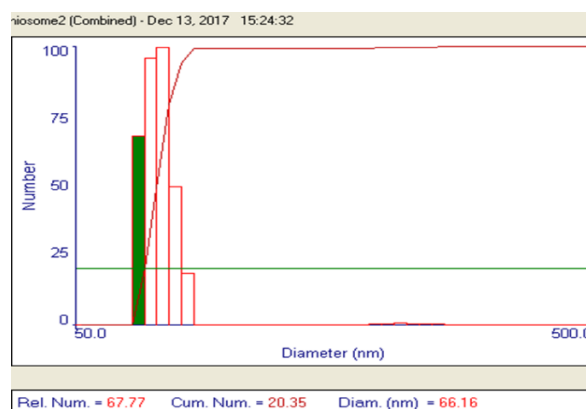
Figure 2. SEM microscope images of niosomal nanoparticles prepared with the first (A), second (B) and third (C) formulations.

Investigation of Size and Zeta Potential of Nanoparticles

Particle size is an essential characteristic of drug delivery systems affecting loading and release rates (27). The particle size and zeta potential of drug-free niosomes were 140 nm and -7.44 mV, respectively. The polydispersity index of these nanoparticles was estimated to be 0.183, which indicates that the particle size has a narrow spectrum. The zeta potential of cefazolin was also evaluated as -14 mV. Because drug delivery from nanoparticles with the third

formulation was appropriate, this analysis was performed only for niosome nanoparticles prepared with this formulation. As illustrated in Figure 3, the particle size and zeta potential of niosomes containing cefazolin with the third formulation were 153 nm and -24 mV, respectively. The zeta potential of drug-containing niosomes reached -21 mV after 18 days. The size of the niosomes containing cefazolin after one month was 289 nm, and their polydispersity index was 0.264. Also, the surface charge of nanoparticles reached -53 mV after one month.

(A)



(B)

Run	Mobility	Zeta Potential (mV)	Rel. Residual
1	-1.99	-25.51	0.0361
2	-1.68	-21.47	0.0287
3	-2.02	-25.80	0.0579
Mean	-1.90	-24.26	0.0409
Std. Error	0.11	1.40	0.0088
Combined	-1.89	-24.13	0.0320

Figure 3. Results of particle size (A) and zeta potential (B) of niosome nanoparticles.

Drug Release and Encapsulation Efficiency

The encapsulation efficiency of cefazolin in niosome nanoparticles was calculated using Eq 1. The encapsulation efficiency in the niosome with the first, second, and third formulations were 33%, 19.7%, and 40.76%, respectively (Figure 4). The structure and ratio of surfactants cause differences in drug encapsulation. The release rate of the drug from the nanoparticles prepared with the first formulation in the first 6 hours was 21.7%. Also, 33% of the loaded drug was released within 48 hours. During ten days, 37% of the drug was released from the nanocarrier. Drug release reached 48% after one month. The rate of drug release from nanoparticles in this formulation was slower than in other formulations related to

cholesterol levels. Cholesterol increases the strength of the membrane and reduces the release of cefazolin through diffusion. In the second formulation, 35% of the cefazolin was released in the first 6 hours. Also, within 48 hours, the release reached 59.9%. The release of cefazolin in this formulation after 10 and 30 days was 80% and 81.5%, respectively. The release rate of cefazolin from nanoparticles prepared with the third formulation was higher due to the lower cholesterol ratio than the other two formulations. In the first 6 hours, 42%, and after 48 hours, 52% of the drug was released from the niosome nanoparticles. This release reached 60% and 63.1% after 10 and 30 days.

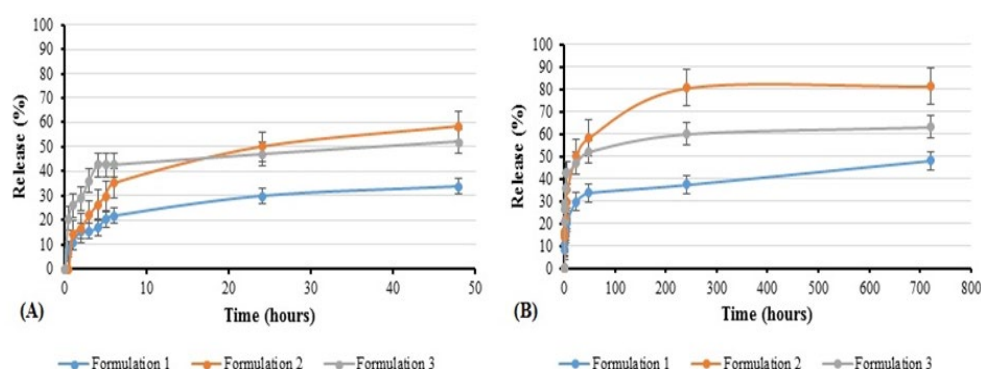


Figure 4. Cefazolin released from niosome nanoparticles after 48 hours (A) and 30 days (B).

Microbial Evaluation:

MIC Assay

The concentration of 4 µg/mL was determined as the minimum growth inhibitory concentration of *E. coli*. A concentration of 150 µg/mL was also determined as the MIC for *S. aureus*.

Disk Diffusion Assay

The drug-free niosomes did not inhibit growth in any of the bacterial strains; This result indicates that the niosomes do not have antibacterial properties. The antibacterial activity of cefazolin on the first day was significantly higher than the niosomes loaded with the drug ($P<0.05$). The diameter of the growth inhibition zone of this drug was measured to be 3 cm, which is related to the higher concentration of the drug in the environment. In the nanoparticles with the first formulation, the growth inhibition zone of *E. coli* decreased rapidly during three days, and bacterial colonies were observed on the sixth day (Figure 5). The antibacterial activity of nanoparticles with the first formulation in the first 24 h was significantly higher than other days ($P<0.05$). Over time, the drug is released into the culture medium, which reduces the concentration of the drug in the inhibition areas. Then, as the release of the drug from the nanocarrier decreases, the growth of bacteria prevails, and the diameter of the inhibition zone becomes small. Also, a small inhibition zone was observed on the first day in the *S. aureus* bacterial plate, which disappeared in the following days.

Niosome nanoparticles with the second formulation created a growth inhibition zone in the *E. coli* with a diameter of 1.85 cm. The load and drug released from the niosome with the second formulation were less than the other formulations. The antibacterial activity of niosomes with the second formulation on the first day was significantly higher than other days ($P<0.05$). However, the antibacterial activity in the first 24 hours was not significant compared to nanoparticles prepared with the first formulation. Niosome with a second formulation did not create a measurable inhibition zone for *S. aureus*.

The growth of *E. coli* treated with the third niosome was also reduced. On the first day, the growth inhibition zone of this nanocarrier was 2.2 cm, which was not significant compared to the first formulation. However, the inhibition zone with the third formulation remained almost the same until the sixth day, and its antibacterial activity was significantly higher than other niosomal nanoparticles ($P<0.05$). The drug loading and release from this nanocarrier was more than the other two formulations; As a result, the nanocarrier with the third formula had an excellent antimicrobial effect against *E. coli* in 6 days. The growth area in the *S. aureus* was more significant than the diameter of the first formulation ($P<0.05$). However, this area disappeared in the following days.

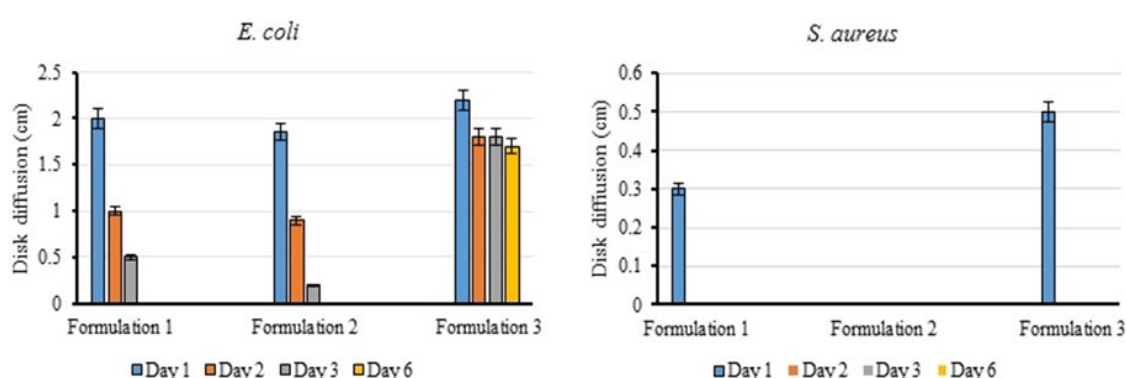


Figure 5. Comparison diagram of disk diffusion test results for 3 niosomes formulations on *E. coli* and *S. aureus*.

4. Discussion

Among the advantages of nano antibiotics over conventional antibiotics are increased solubility and suitable destruction in the body. Therefore, the desired therapeutic effect can be achieved by

improving bioavailability at lower doses (4). There are many hypotheses about the antimicrobial mechanisms of nano antibiotics; Increasing the surface-to-volume ratio seems to increase the level of contact

with the bacteria. These antibiotics also produce large amounts of reactive oxygen species, and their unique formulation reduces drug release from bacteria (28). Much attention has been paid to vesicular drug delivery systems, such as liposomes and niosomes. Studies show that niosomes are effective, targeted, and long-lasting drug delivery systems than liposomes (29). Due to their non-ionic nature, niosomes are more compatible and less toxic than other drug delivery systems (30). Studies show that the type and concentration of surfactants used to synthesize niosomes play an essential role in encapsulating and releasing drugs from nanoparticles. As the surfactant chain length increases, the encapsulation rate increases (29). In this study, niosomic nanoparticles containing the antibiotic cefazolin were synthesized using three formulations containing span 60, tween 60, and cholesterol in different ratios, and the properties of nanoparticles and their antibacterial activity were investigated.

The morphology of the synthesized nanoparticles was spherical with all three formulations. The size of these nanoparticles was slightly different in SEM and DLS. This difference may be due to differences in how nanoparticles are prepared and sampled. Dharashivkar *et al.* also observed that the niosomal nanoparticles prepared with span 60 and tween have a spherical structure (31). Yaghoobian *et al.* (2020) observed that the size of niosome nanoparticles synthesized with different surfactant varies between 119 and 236 nm. The size of nanoparticles synthesized with spin 60 and tween 60 was 212 nm (32). The polydispersity index of nanoparticles is between 0 and 1. The closer this number is to 0.1, the particle size is more uniform.

The zeta potential of all nanoparticles in this study was negative. With the loading of cefazolin in the niosome, the zeta potential changed from -7.4 to -24 mV. This change is related to the zeta potential of the cefazolin. Cefazolin is first placed in the hydrophilic part of the niosome, and over time, due to the dynamics of the membrane, it is also placed in the membrane, causing the zeta potential to become more negative. Zeta potential greater than ± 30 mV indicates good stability, the zeta potential of ± 20 mV indicates low stability, and nanocarrier instability is in the range of ± 5 mV (22, 33). The zeta potential of the synthesized nanoparticles shows their average stability. Also, loading the drug in the nanoparticles increases the particle size from 140 to 153 nm. In another study, it was observed that the zeta potential of niosomal nanoparticles reached -25 mV after loading of carvedilol. Also, the release of carvedilol in this system increases the particle size to 167 nm (22). The nanoparticle size increased to 289 nm after one month, but the polydispersity index shows particle

size uniformity. In 2017, Taymouri *et al.* observed that the size of niosome nanoparticles increased from 167 to 389 nm after one month. The polydispersity index increased from 0.6 to 0.9, which means an increase in size and high dispersion of particle size. The zeta potential of these nanoparticles also changed from -25 to -17 mV (22).

The amount of cefazolin loaded in the niosome in formulation 3 was higher than the other two formulas (40.76%). Uchegbu *et al.* found that the loading efficiency of doxorubicin in niosome nanoparticles consisting of span 60, cholesterol, and cholesh24 at 45:45:10 was 35% (14). The size and physicochemical properties of the drug molecule are critical factors in drugs released from nanoparticles. The niosome synthesis method also affects its encapsulation efficiency. Drug release from the niosome in the first formulation was slow. These results are consistent with other studies (13, 34, 35). By lowering cholesterol from the first to the third formulation, the release rate increases. Cholesterol in the structure of the niosomal membrane increases the strength and decreases the rate of drug release. In this experiment, the niosomes with the third formula, which have the highest drug load and contain less cholesterol, release more drugs than the niosomes of the other two formulas throughout the release period.

Niosomes containing cefazolin inhibit the growth of *E. coli* more than *S. aureus* significantly ($P < 0.05$). This difference is related to the difference in the structure of the bacterial cell wall. Through their defense mechanisms, such as beta-lactamase production and increased concentration-dependent pumps, bacteria destroy the antibiotic's structure and reduce its concentration in the environment. Bacteria that have escaped the drug then multiply rapidly. One of the essential effects of antibiotic loading on nanoparticles is the stability and maintenance of drug structure (36, 37). Due to the lower loading and release rate, the nanoparticles synthesized with the second formulation create a smaller inhibition area. Low drug release in this formulation also allows bacteria to multiply; For this reason, the diameter of the inhibition area decreases rapidly. Niosomal nanoparticles synthesized with the third formulation have a more significant inhibitory effect against both bacterial strains due to the higher loading of cefazolin. The antibacterial effect can be observed over time with cefazolin's continuous and controlled release from these nanoparticles. Another mechanism that increases the antibacterial activity of nanoparticles loaded with antibiotics is the penetration of nanoparticles into the bacterial cell. Niosomes interact with bacterial cells through fusion and adsorption. Also, reducing the size of the niosomes results in better interaction with the bacterial

membrane and reduces the MIC values (35, 38). The lipid layer of the niosomes fuses with the bacterium's outer membrane, and the drug accumulates in the bacterial cell. Accumulation of nanoparticles and drugs in bacterial cells also causes irregularity in the cytoplasmic membrane and its rupture (39). Also, with

the optimal entry of this antibiotic into bacterial cells and dysfunction of proteins, peptidoglycan wall synthesis is effectively inhibited (40). Table 2 compares the anti-bacterial effect of nanocarriers containing antibiotics.

Table 2. Comparison of antibacterial effect of antibiotic nanocarriers on the growth of gram-positive and gram-negative bacteria.

Antibiotic	Nanocarrier	Results	Ref.
Norflloxacin	Solid lipid nanoparticles	Nanocarriers containing antibiotics significantly reduce the growth of <i>E. coli</i> compared to free drug and this effect is stable after 9 months (MIC value = 0.2 µg/mL).	(41)
Florfenicol	Solid lipid nanoparticles	The MIC of nanocarriers containing antibiotics for <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> are 3 and 6 µg/mL, respectively. This nanocarriers significantly reduces the mortality of mice with <i>E. coli</i> compared to the free drug.	(37)
Cefazolin	Niosome	Niosomes containing cefazolin at concentrations of 128 and 256 µg/mL removed <i>S. aureus</i> 3 and 5-day biofilms.	(42)
Cefazolin	Single-layer liposomes	The use of this nanocarrier reduced the population of <i>S. aureus</i> by 7.9 times.	(43)
Cefazolin	Niosome	The MIC of nanocarrier containing antibiotics for <i>E. coli</i> and <i>S. aureus</i> were 4 and 150 µg/mL, respectively.	Present study

5. Conclusion

Increasing the use of new drug carriers is a crucial way to increase antibiotic efficacy, reduce dose, and thus reduce the risk of developing antibiotic resistance. In this study, niosomal nanoparticles containing cefazolin were prepared by the thin layer hydration method. Niosome nanoparticles were fabricated with three different formulations and ratios of cholesterol, span 60 and tween 60. Antibiotic encapsulation efficiencies in nanoparticles with first, second, and third formulations were 33%, 19.7%, and 40.76%, respectively. The morphology of the synthesized spherical nanoparticles and the size and zeta potential of the particles were 154 nm and -24 mV, respectively. The release of cefazolin from the first, second, and third niosomal nanocarrier during 30 days was 48%, 81.5%, and 63%. The niosomal nanocarrier prepared with the third formulation showed a good antibacterial effect against *Escherichia coli* for 6 days, and the diameter of its growth inhibition zone remains almost constant. The minimum inhibitory concentrations for *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 9637) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 12600) were measured at 4 and 150 µg/mL, respectively. The niosomal nanocarrier entered the bacterial cell by attaching to the outer membrane of the bacteria and preventing the growth of bacteria by the continuous and controlled release of antibiotics.

Acknowledgment & Funding

The authors would like to acknowledge the Iran National Science Foundation (INSF) (Project 96002094) for the financial support of this work.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest between the authors in the study.

References

- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2095-128. [DOI:10.1016/S0140-6736(12)61728-0]
- Winters C, Gelband H. Part I. the Global Antibiotic Resistance Partnership (GARP). *S Afr Med J*. 2011;101(8 Pt 2):556-7.
- Huh AJ, Kwon YJ. "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *J Control Release*. 2011;156(2):128-45. [DOI:10.1016/j.jconrel.2011.07.002] [PMID]

4. Jamil B, Syed MA. Nano-antimicrobials: A Viable Approach to Tackle Multidrug-Resistant Pathogens. *Nanotechnology Applied To Pharmaceutical Technology*: Springer; 2017. p. 31-54. [DOI:10.1007/978-3-319-70299-5_2]
5. Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, et al. Antibiotic resistance-the need for global solutions. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(12):1057-98. [DOI:10.1016/S1473-3099(13)70318-9]
6. Elkomy MH, Sultan P, Drover DR, Epshtein E, Galinkin JL, Carvalho B. Pharmacokinetics of prophylactic cefazolin in parturients undergoing cesarean delivery. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(6):3504-13. [DOI:10.1128/AAC.02613-13] [PMID] [PMCID]
7. Kusaba T. Safety and efficacy of cefazolin sodium in the management of bacterial infection and in surgical prophylaxis. *Clin Med Ther*. 2009;1:CMT.S2096. [DOI:10.4137/CMT.S2096]
8. Yang X, Xia P, Zhang Y, Lian S, Li H, Zhu G, et al. Photothermal nano-antibiotic for effective treatment of multidrug-resistant bacterial infection. *ACS Appl*. 2020;3(8):5395-406. [DOI:10.1021/acsabm.0c00702]
9. Bagheri A, Chu BS, Yaakob H. Niosomal drug delivery systems: formulation, preparation and applications. *World Appl Sci J*. 2014;32(8):1671-85.
10. Khan R, Irchhaiya R. Niosomes: a potential tool for novel drug delivery. *J Pharm Investig*. 2016;46(3):195-204. [DOI:10.1007/s40005-016-0249-9]
11. Shakhova V, Belyaev V, Kastarnova E, Orobets V, Grudeva E, editors. Niosomes: a promising drug delivery system. *E3S Web of Conferences*; 2020: EDP Sciences. [DOI:10.1051/e3sconf/202017507003]
12. Jankie S, Johnson J, Adebayo AS, Pillai GK, Pinto Pereira LM. Efficacy of Levofloxacin Loaded Nonionic Surfactant Vesicles (Niosomes) in a Model of *Pseudomonas aeruginosa* Infected Sprague Dawley Rats. *Adv Pharmacol Pharm Sci*. 2020;8815969. [DOI:10.1155/2020/8815969] [PMID] [PMCID]
13. Bayindir ZS, Yuksel N. Characterization of niosomes prepared with various nonionic surfactants for paclitaxel oral delivery. *J Pharm Sci*. 2010;99(4):2049-60. [DOI:10.1002/jps.21944] [PMID]
14. Uchegbu IF, Double JA, Turton JA, Florence AT. Distribution, metabolism and tumoricidal activity of doxorubicin administered in sorbitan monostearate (Span 60) niosomes in the mouse. *Pharm Res*. 1995;12(7):1019-24. [DOI:10.1023/A:1016210515134] [PMID]
15. Sambhakar S, Singh B, Paliwal S, Mishra P. Niosomes as a potential carrier for controlled release of cefuroxime axetil. *Asian J Biomed Pharm Sci*. 2011;1(1):126-36.
16. Wu ZL, Zhao J, Xu R. Recent Advances in Oral Nano-Antibiotics for Bacterial Infection Therapy. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:9587-610. [DOI:10.2147/IJN.S279652] [PMID] [PMCID]
17. Moaddab M, Nourmohammadi J, Rezayan AH. Bioactive composite scaffolds of carboxymethyl chitosan-silk fibroin containing chitosan nanoparticles for sustained release of ascorbic acid. *Eur Polym J*. 2018;103:40-50. [DOI:10.1016/j.eurpolymj.2018.03.032]
18. Hamedinasab H, Rezayan AH, Mellat M, Mashreghi M, Jaafari MR. Development of chitosan-coated liposome for pulmonary delivery of N-acetylcysteine. *Int J Biol Macromol*. 2020;156:1455-63. [DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.11.190] [PMID]
19. Ahmadiabar P, Momtazi-Borojeni AA, Rezayan AH, Mahmoodi M, Sahebkar A, Mellat M. Enhanced entrapment and improved in vitro controlled release of n-acetyl cysteine in hybrid PLGA/lecithin nanoparticles prepared using a nanoprecipitation/self-assembly method. *J Cell Biochem*. 2017;118(12):4203-9. [DOI:10.1002/jcb.26070] [PMID]
20. Marwa A, Omaira S, Hanaa E-G, Mohammed A-S. Preparation and in-vitro evaluation of diclofenac sodium niosomal formulations. *Int J Pharm Sci Res*. 2013;4(5):1757.
21. Wang G, Liu SJ, Ueng SW, Chan EC. The release of cefazolin and gentamicin from biodegradable PLA/PGA beads. *Int J Pharm*. 2004;273(1-2):203-12. [DOI:10.1016/j.ijpharm.2004.01.010] [PMID]
22. Taymouri S, Varshosaz J. Effect of different types of surfactants on the physical properties and stability of carvedilol nano-niosomes. *Adv Biomed Res*. 2016;5:48. [DOI:10.4103/2277-9175.178781] [PMID] [PMCID]
23. Bhattacharjee S. DLS and zeta potential-what they are and what they are not? *J Control Release*. 2016;235:337-51. [DOI:10.1016/j.jconrel.2016.06.017] [PMID]
24. Beiranvand S, Eatemadi A, Karimi A. New updates pertaining to drug delivery of local anesthetics in particular bupivacaine using lipid nanoparticles. *Nanoscale Res Lett*. 2016;11(1):1-

10. [DOI:10.1186/s11671-016-1520-8] [PMID] [PMCID]
25. Mirmajidi T, Chogan F, Rezayan AH, Sharifi AM. In vitro and in vivo evaluation of a nanofiber wound dressing loaded with melatonin. *Int J Pharm.* 2021;596:120213. [DOI:10.1016/j.ijpharm.2021.120213] [PMID]
26. Chogan F, Mirmajidi T, Rezayan AH, Sharifi AM, Ghahary A, Nourmohammadi J, et al. Design, fabrication, and optimization of a dual function three-layer scaffold for controlled release of metformin hydrochloride to alleviate fibrosis and accelerate wound healing. *Acta Biomater.* 2020;113:144-63. [DOI:10.1016/j.actbio.2020.06.031] [PMID]
27. Akbari V, Abedi D, Pardakhty A, Sadeghi-Aliabadi H. Release Studies on Ciprofloxacin Loaded Non-ionic Surfactant Vesicles. *Avicenna J Med Biotechnol.* 2015;7(2):69-75.
28. Kashef MT, Saleh NM, Assar NH, Ramadan MA. The Antimicrobial Activity of Ciprofloxacin-Loaded Niosomes against Ciprofloxacin-Resistant and Biofilm-Forming *Staphylococcus aureus*. *Infect Drug Resist.* 2020;13:1619-29. [DOI:10.2147/IDR.S249628] [PMID] [PMCID]
29. Vasistha P, Ram A. Non-ionic provesicular drug carrier: an overview. *Asian J Pharm Clin Res.* 2013;6(1):38-42.
30. Kumar GP, Rajeshwarrao P. Nonionic surfactant vesicular systems for effective drug delivery-an overview. *Acta Pharm Sin.* 2011;1(4):208-19. [DOI:10.1016/j.apsb.2011.09.002]
31. Dharashivkar SS, Sahasrabudhe S, Saoji A, editors. Silver sulfadiazine niosomes: a novel sustained release once a day formulation for burn treatment 2014.
32. Yaghoobian M, Haeri A, Bolourchian N, Shahhosseini S, Dadashzadeh S. The impact of surfactant composition and surface charge of niosomes on the oral absorption of repaglinide as a BCS II model drug. *Int J Nanomedicine.* 2020; 15:8767. [DOI:10.2147/IJN.S261932] [PMID] [PMCID]
33. Sadeghi S, Bakhshandeh H, Ahangari Cohan R, Peirovi A, Ehsani P, Norouzian D. Synergistic Anti-Staphylococcal Activity Of Niosomal Recombinant Lysostaphin-LL-37. *Int J Nanomed.* 2019;14:9777-92. [DOI:10.2147/IJN.S230269] [PMID] [PMCID]
34. Carafa M, Santucci E, Lucania G. Lidocaine-loaded non-ionic surfactant vesicles: characterization and in vitro permeation studies. *Int J Pharm.* 2002;231(1):21-32. [DOI:10.1016/S0378-5173(01)00828-6]
35. Akbarzadeh I, Keramati M, Azadi A, Afzali E, Shahbazi R, Chiani M, et al. Optimization, physicochemical characterization, and antimicrobial activity of a novel simvastatin nano-niosomal gel against *E. coli* and *S. aureus*. *Chem Phys Lipids.* 2021;234:105019. [PMID] [DOI:10.1016/j.chemphyslip.2020.105019]
36. Zhu L, Cao X, Xu Q, Su J, Li X, Zhou W. Evaluation of the antibacterial activity of tilmicosin-SLN against *Streptococcus agalactiae*: in vitro and in vivo studies. *Int J Nanomedicine.* 2018;13:4747-55. [DOI:10.2147/IJN.S168179] [PMID] [PMCID]
37. Wang T, Chen X, Lu M, Li X, Zhou W. Preparation, characterisation and antibacterial activity of a florfenicol-loaded solid lipid nanoparticle suspension. *IET Nanobiotechnol.* 2015;9(6):355-61. [DOI:10.1049/iet-nbt.2015.0012] [PMID]
38. Ghafelehbashi R, Akbarzadeh I, Tavakkoli Yarakhi M, Lajevardi A, Fatemizadeh M, Heidarpour Saremi L. Preparation, physicochemical properties, in vitro evaluation and release behavior of cephalexin-loaded niosomes. *Int J Pharm.* 2019;569:118580. [DOI:10.1016/j.ijpharm.2019.118580] [PMID]
39. Khan S, Akhtar MU, Khan S, Javed F, Khan AA. Nanoniosome-encapsulated levofloxacin as an antibacterial agent against *Brucella*. *J Basic Microbiol.* 2020;60(3):281-90. [DOI:10.1002/jobm.201900454] [PMID]
40. Chen S-T, Chien H-W, Cheng C-Y, Huang H-M, Song T-Y, Chen Y-C, et al. Drug-release dynamics and antibacterial activities of chitosan/cefazolin coatings on Ti implants. *Prog Org Coat.* 2021; 159:106385. [DOI:10.1016/j.porgcoat.2021.106385]
41. Wang Y, Zhu L, Dong Z, Xie S, Chen X, Lu M, et al. Preparation and stability study of norfloxacin-loaded solid lipid nanoparticle suspensions. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2012;98:105-11. [DOI:10.1016/j.colsurfb.2012.05.006] [PMID]
42. Zafari M, Adibi M, Chiani M, Bolourchi N, Barzi SM, Shams Nosrati MS, et al. Effects of cefazolin-containing niosome nanoparticles against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm formed on chronic wounds. *Biomed Mater.* 2021;16(3):035001. [DOI:10.1088/1748-605X/abc7f2] [PMID]
43. Bhise K, Sau S, Kebriaei R, Rice SA, Stamper KC, Alsaab HO, et al. Combination of Vancomycin

and Cefazolin Lipid Nanoparticles for Overcoming Antibiotic Resistance of MRSA. Materials (Basel). 2018;11(7):1245.
[\[DOI:10.3390/ma11071245\]](https://doi.org/10.3390/ma11071245) [\[PMID\]](#) [\[PMCID\]](#)

تهیه و ارزیابی سامانه نیوزومی به منظور رسانش کنترل شده داروی
سفازولین و بررسی فعالیت ضدباکتریایی آنعطیه شیروانی^۱، علی حسین رضایان^{۱*}، هاله الوندی^۱، محمد برشان تشنیزی^۱، حسین صباحی^۱

۱. بخش نانوبیوتکنولوژی، گروه مهندسی علوم زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۵

پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۵

انتشار آنلاین: ۱۴۰۰/۰۹/۱۷

موضوع: نانوبیوتکنولوژی در پزشکی

نویسنده مسئول:

علی حسین رضایان

بخش نانوبیوتکنولوژی، گروه مهندسی علوم
زیستی، دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه
تهران، تهران، ایران

ایمیل:

ahrezayan@ut.ac.ir

زمینه و اهداف: بیماری‌های عفونی از اصلی‌ترین دلایل مرگ‌ومیر در جهان هستند. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای مقابله با این بیماری‌ها علاوه بر محدودیت‌ها و بروز عوارض جانبی، سبب مقاومت میکروارگانیسم‌ها می‌شود. استفاده از نانوسامانه‌های دارورسان راهی موثر برای افزایش پایداری و کاهش میزان مصرف آنتی‌بیوتیک است. هدف این پژوهش بارگذاری داروی سفازولین در نانوسامانه نیوزومی به منظور رهایش کنترل شده آن است.

مواد و روش کار: این مطالعه تجربی در سال ۹۷ برای بررسی اثر فرمولاسیون بر پایه اسپن ۶۰، توئین ۶۰ و کلسترول بر سنتز نانوسامانه نیوزومی بارگذاری شده با آنتی‌بیوتیک سفازولین به روش آب‌رسانی لایه نازک انجام شد. مشخصات نانوسامانه‌های سنتزی و فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها روی باکتری‌ها بررسی شد.

یافته‌ها: تصاویر SEM نشان داد، نانوذرات کروی هستند. بازده محصورسازی فرمولاسیون اول، دوم و سوم به ترتیب ۳۳٪، ۱۹٪ و ۴۰٪ بود. رهایش سفازولین از نانوسامانه اول، دوم و سوم طی ۳۰ روز ۴۸٪، ۸۱٪ و ۶۳٪ بود. اندازه و پتانسیل زتا نانوسامانه نیوزومی سوم ۱۵۴ نانومتر و ۲۴- میلی‌ولت ارزیابی شد. حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری /شریشیا کلی و /استافیلوکوکوس/اورئوس به ترتیب ۴ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. نانوسامانه با فرمولاسیون سوم اثر ضدباکتریایی معنی‌داری در ۶ روز بر باکتری /شریشیا کلی نشان داد و قطر هاله عدم رشد آن تقریباً ثابت ماند.

نتیجه‌گیری: فرمولاسیون بهینه نانوذرات نیوزوم شامل اسپن ۶۰ (۰/۰۶۰)، توئین ۶۰ (۰/۰۹۰) و کلسترول (۰/۰۴۶) بود. رهایش مداوم و کنترل شده سفازولین از نیوزوم، همراه با افزایش نفوذ دارو سبب کاهش رشد باکتری‌های /شریشیا کلی (E. coli) و /استافیلوکوکوس/اورئوس (S. aureus) می‌شود.

کلید واژه‌ها: نیوزوم، آنتی‌بیوتیک، سفازولین، بیماری‌های عفونی، دارورسانی کنترل شده

کپی‌رایت © مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده غیرتجاری با ذکر منبع آزاد است.

مقدمه

میکروارگانیسم‌های مقاوم، /استافیلوکوکوس/اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، /تتروکوکوس مقاوم به ونکومايسين، /استافیلوکوکوس/اورئوس مقاوم به ونکومايسين، /ستریپتوکوکوس پنومونیه مقاوم به پنی‌سیلین و /شریشیا کلی از جمله عفونت‌های شایع در بیمارستان‌ها هستند. از میان این باکتری‌ها، آمار ابتلا و مرگ‌ومیر ناشی از دو سویه /استافیلوکوکوس/اورئوس و /شریشیا کلی به‌طور معنی‌داری بیشتر است (۳).

مکانیسم‌های مختلفی برای تفسیر مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک پیشنهاد شده است. از جمله مکانیسم‌های مقاومت باکتری‌های مذکور می‌توان به تغییر پورین‌ها، افزایش بیان

بیماری‌های عفونی به عنوان یکی از دلایل اصلی مرگ و میر در سرتاسر دنیا برای تمامی سنین شناخته شده است. عفونت‌های دستگاه گوارش، تنفس، دستگاه تناسلی، و عفونت‌های بیمارستانی عامل اصلی مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه هستند (۱). از حدود یک قرن پیش ظهور آنتی‌بیوتیک‌ها موجب پیشرفت در درمان بیماری‌های عفونی شده است؛ اما استفاده از این آنتی‌بیوتیک‌ها محدودیت‌هایی مانند غلظت نامناسب دارو در محل عفونت و بروز برخی عوارض جانبی را دارد. همچنین مصرف گسترده و سوء مصرف آن‌ها منجر به مشکلاتی از جمله مقاومت میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک شده است (۱، ۳). در بین

در درمان بیماری‌های عفونی باکتریایی و در ادامه تحقیقات نویسندگان درباره سامانه‌های دارورسانی که قبلاً منتشر شده است (۱۷-۱۹)، هدف مطالعه تهیه نانوذرات نیوزومی بارگذاری شده با داروی سفازولین با ۳ فرمولاسیون متفاوت و مقایسه فعالیت ضدباکتریایی این نانوذرات در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در سال ۹۷ انجام شد. مطابق مطالعات پیشین فرمولاسیون نانوذرات نیوزوم با استفاده از ۳ سورفکتانت اسپن ۶۰، ۶۰، ۶۰ و کلسترول (مرک، آلمان) تهیه شد (۲۰-۲۲). جدول ۱، سه فرمولاسیون نانوذرات نیوزوم را نشان می‌دهد. این مواد در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شدند و در بالن متصل به دستگاه تبخیر روتاری همزده شدند (دمای ۵۵ درجه سلسیوس و دور ۱۲۰ rpm). پس از ۹۰ دقیقه در شرایط خلا، لایه‌ای سفید رنگ در کف بالن تشکیل شد. برای تهیه نانوذرات بارگذاری شده با سفازولین، پس از قرار دادن بالن در شرایط خلا با دمای ۵۵ درجه سلسیوس و ۵۵ دور در دقیقه، ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین (PBS) حاوی سفازولین به آن افزوده شد. پس از ۴۰ دقیقه لایه سفید رنگ در کف بالن تشکیل شد. سپس به منظور کاهش اندازه‌ی نیوزوم‌های تشکیل شده، سوسپانسیون نانوذرات به مدت ۴ دقیقه در سونیکاتور با قدرت ۱۵۰ وات قرار داده شد (۲۲). شکل ۱ تصویر شماتیک تهیه نانوذرات نیوزومی را نشان می‌دهد.

مشخصه‌یابی نانوذرات

مورفولوژی نانوذرات

به‌منظور تعیین مورفولوژی ذرات نیوزومی تصویر SEM از آن‌ها تهیه شد. برای این منظور ابتدا مقداری از نمونه روی لام قرار گرفت و پس از خشک شدن، نمونه با طلا لایه‌نشانی شد. سپس از نمونه تصویربرداری صورت گرفت. نمونه نیوزومی نارسا است و به منظور تهیه تصویر، ولتاژ پایین برای آن تنظیم می‌شود.

اندازه و پتانسیل زتا نانوذرات

برای بررسی اندازه و پتانسیل زتا نانوذرات از دستگاه پراکندگی نور دینامیکی (DLS) استفاده شد. در یک محلول، برخورد ذرات و مولکول‌های کوچک با مولکول‌های حلال، منجر به حرکت تصادفی مولکول‌ها می‌شود. حرکت ذرات کوچک در یک سیال، حرکت براونی نامیده می‌شود. با استفاده از این دستگاه، اندازه و پراکندگی نانوذرات مورد بررسی قرار می‌گیرد. بار سطحی

پمپ‌های وابسته به غلظت، تغییر ساختار جایگاه هدف آنتی‌بیوتیک‌ها و تولید بتالاکتاماز اشاره کرد (۴، ۵). آنتی‌بیوتیک سفازولین از گروه سفالوسپورین‌ها، در برابر طیف گسترده‌ای از باکتری‌های گرم‌مثبت و برخی از باکتری‌های گرم منفی فعال است. این آنتی‌بیوتیک از سنتز دیواره پپتیدوگلیکان جلوگیری می‌کند. در سال‌های اخیر مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به این گروه نیز ایجاد شده است. علاوه‌براین نیمه عمر این دارو در پلاسما پایین است (۶، ۷).

یکی از راه‌های مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی، استفاده از نانوحامل‌ها است. نانوحامل‌ها با حفظ ساختار دارو، سبب افزایش پایداری، افزایش جذب، اصلاح فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک دارو و افزایش نفوذ سلولی می‌شوند. اثر درمانی مورد نظر با بهبود زیست دسترس‌پذیری در غلظت کم به دست می‌آید که سبب کاهش عوارض جانبی و سمیت وابسته به غلظت خواهد شد. هم‌چنین با رسانش هدفمند دارو، محل عفونت بیشترین میزان دارو را دریافت کرده و اثر ضد میکروبی بهینه ایجاد می‌شود. از مزایای نانوحامل‌ها می‌توان به امکان رهایش مداوم و کنترل شده دارو اشاره کرد که می‌تواند مقاومت آنتی‌بیوتیکی را کاهش دهد (۴، ۸). یکی از مهم‌ترین نانوحامل‌ها در دارورسانی، نانوسامانه نیوزوم است؛ نیوزوم‌ها وزیکول‌های سورفاکتانتی غیر یونی هستند که از کلسترول و سایر لیپیدها تشکیل شدند. این نانوسامانه با داشتن دو بخش آب دوست و آب گریز، می‌تواند مولکول‌های دارویی با حلالیت‌های مختلف را در خود قرار دهد. سورفاکتانت‌های نیوزومی زیست سازگار و زیست تجزیه پذیر هستند (۹-۱۲). نیوزوم‌ها به عنوان نانوحامل برای بارگذاری دارو، واکسن و ژن مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۳). نیوزوم‌های حاوی دوکسوروبیسین رهایش طولانی مدت دارو را فراهم کرده و عوارض جانبی ریوی در موش‌ها ایجاد نمی‌کنند. این نانوحامل سبب افزایش دو برابری فعالیت ضدتوموری دارو می‌شود (۱۴). نیوزوم برای رسانش چشمی کنترل شده آنتی‌بیوتیک‌های موضعی محلول در آب مانند جنتامایسین نیز مناسب است (۱۵). هم‌چنین نیوزوم‌های بارگذاری شده با آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند آزیترومایسین، کلاریترومایسین و سفیکسیم با استفاده از کلسترول به همراه سورفاکتانت‌های مختلف سنتز شدند (۱۶).

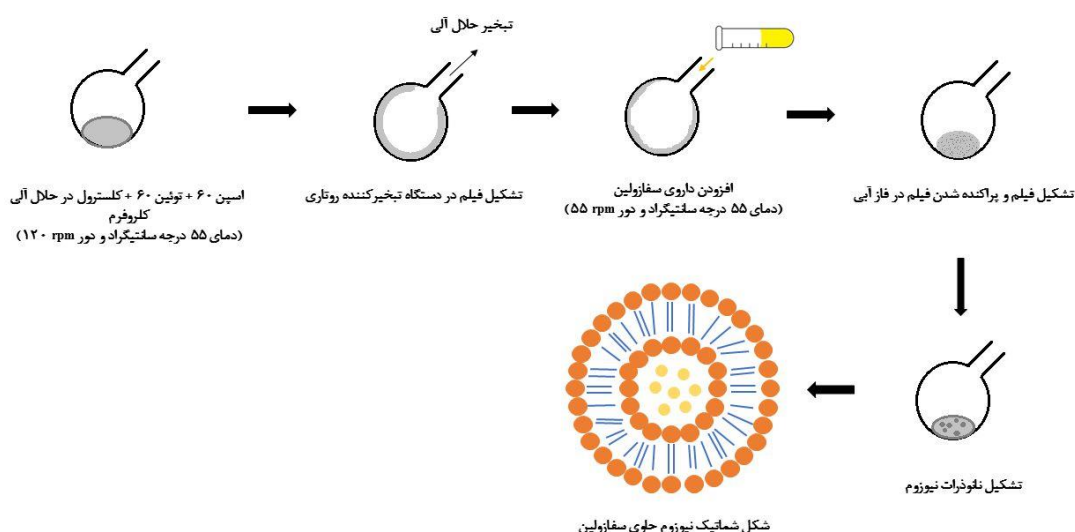
از جمله عوامل موثر در تهیه نیوزوم، ماهیت و ساختار سورفاکتانت، محتوای کلسترول و نسبت ترکیبات مورد استفاده در ساخت آن‌ها است. با توجه به استفاده روزافزون از داروی سفازولین

با دستگاه انجام شد. هم‌چنین میزان بار سطحی داروی سفازولین، توسط دستگاه زتاسایزر بررسی شد (SZ-100z Dynamic Light Scattering & Zeta potential analyzer- Horiba- France). برای بررسی پایداری نانوذرات، میزان بار سطحی سامانه نیوزومی پس از ۱۸ روز و پس از ۱ ماه توسط دستگاه زتاسایزر مورد بررسی قرار گرفت.

وزیکول‌ها نقش مهمی در عملکرد نیوزوم در بدن دارد و میزان پایداری آن را نشان می‌دهد. میزان پتانسیل زتا با دستگاه زتاسایزر بررسی می‌شود. پتانسیل زتا که پتانسیل الکتروستاتیک هم نامیده می‌شود پتانسیل سطحی یک ذره کلئیدی است که در حال حرکت در میدان الکتریکی است (۲۳). پس از سنتز نانوذرات، نمونه‌ی آماده شده از فیلتر ۰/۰۲ میکرومتری عبور داده شد و آنالیز

جدول ۱. فرمولاسیون‌های تهیه نانوذرات نیوزوم.

ماده	مقدار (گرم)	نسبت	غلظت (میکرومول بر میلی‌لیتر)
فرمولاسیون اول			
اسپین ۶۰	۰/۰۴۳	٪۲۵	۹/۹۱۵
توئین ۶۰	۰/۰۶۴	٪۲۵	۹/۹۱۵
کلسترویل	۰/۰۷۷	٪۵۰	۱۹/۸۳
فرمولاسیون دوم			
اسپین ۶۰	۰/۰۵۱۶	٪۳۰	۱۱/۹۸
توئین ۶۰	۰/۰۷۷	٪۳۰	۱۱/۸۶
کلسترویل	۰/۰۶۱	٪۴۰	۲۱/۷۶
فرمولاسیون سوم			
اسپین ۶۰	۰/۰۶۰	٪۳۵	۱۳/۹۳
توئین ۶۰	۰/۰۹۰	٪۳۵	۱۳/۸۶
کلسترویل	۰/۰۴۶	٪۳۰	۱۱/۸۹



شکل ۱. طرح شماتیک مراحل تهیه نیوزوم به روش لایه نازک.

بررسی میزان رهایش و بارگذاری دارو

تست MIC

در ابتدا محیط کشت نوترینت براث (مرک، آلمان)، محلول ۱ میلی گرم بر میلی لیتر از داروی سفازولین و غلظت ۰/۵ مک فارلند از باکتری *S. aureus* و *E. coli* تهیه شدند. غلظت ۱،۳،۴،۵،۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر از دارو برای باکتری *E. coli* و غلظت ۱۰،۲۰،۳۰،۴۰،۵۰،۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰ برای باکتری *S. aureus* در محیط کشت تهیه شد. سپس محلول باکتری به چاهک افزوده شد. در نهایت پلیت در شیکر انکوباتور دمای ۳۷ درجه سلسیوس و دور ۸۰ rpm قرار داده شدند.

تست هاله عدم رشد

پس از کشت هر باکتری روی محیط کشت مولر هینتون آگار، ۳ چاهک با قطر ۸ میلی متر در محیط ایجاد شد. در چاهکها داروی سفازولین به صورت آزاد و نانوسامانه بدون دارو به عنوان کنترل ریخته شدند. در چاهک سوم، نیوزوم بارگذاری شده با دارو اضافه شد. محیط کشتها به مدت ۱۶ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس قطر هاله عدم رشد باکتری روز ۱، ۲، ۳ و ۶ اندازه گیری شد (۲۶).

یافته‌ها

بررسی مورفولوژی نانوذرات با میکروسکوپ SEM

تصاویر میکروسکوپ SEM در شکل ۲ نشان می‌دهد، مورفولوژی نانوذرات نیوزومی با فرمولاسیون اول، دوم و سوم کروی است و تفاوت قابل توجهی در شکل نیوزومها وجود ندارد. اندازه این نانوذرات بین ۲۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر اندازه گیری شد.

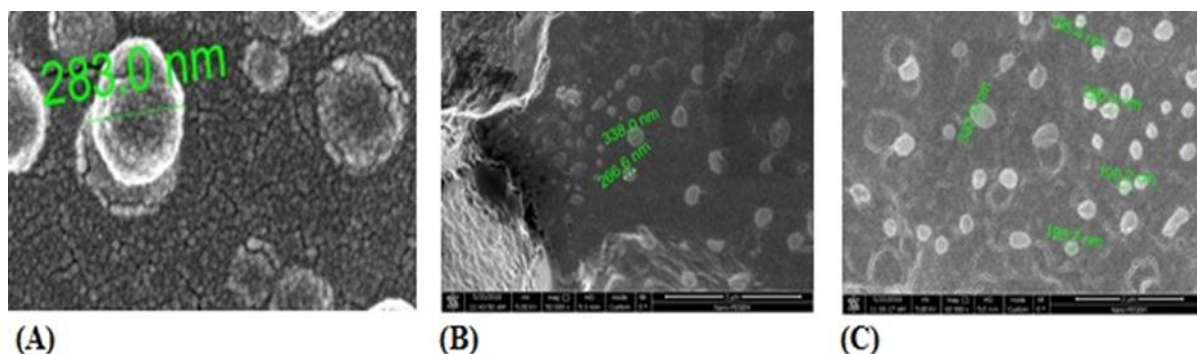
۱ میلی لیتر از محلول نیوزوم حاوی داروی سفازولین خالص شده در کیسه دیالیز ریخته شد و کیسه دیالیز در ۷۰ میلی لیتر PBS قرار داده شد. سپس نمونه در شیکر انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس و ۸۰ دور در دقیقه قرار داده شد. در ۶ ساعت اولیه هر ساعت و پس از آن ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از آغاز تست نمونه برداری صورت گرفت. هم چنین در روز ۱۰ و ۳۰ نیز نمونه برداری انجام شد. در هر نمونه برداری ۶۰۰ میکرولیتر PBS برداشته و ۶۰۰ میکرولیتر PBS هم دما جایگزین آن شد. برای بررسی غلظت سفازولین رهایش یافته، میزان جذب سفالوزولین در ۲۷۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروسکوپی فرابنفش-مرئی بررسی شد (۲۴).

برای بررسی میزان بارگذاری دارو، ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون نانوسامانه ساخته شده در کیسه دیالیز ریخته شده و کیسه دیالیز در ۱۰۰ میلی لیتر PBS قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت میزان جذب دارو اسپکتروسکوپی فرابنفش-مرئی بررسی شد (۲۷۰ نانومتر). سپس مطابق فرمول (۱) درصد بارگذاری دارو محاسبه شد (۲۳، ۲۵):

$100 \times (\text{مقدار کل دارو در محلول اولیه} / \text{مقدار داروی موجود در نیوزوم}) = \text{درصد محصور سازی}$

ارزیابی میکروبی

باکتری گرم منفی /شریشیا کلی (*E. coli*, ATCC 9637) و باکتری گرم مثبت /استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*, ATCC 12600) از دانشکده علوم و فنون نوین، دانشگاه تهران تهیه شدند. روی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت ۴ مرحله ای از این باکتریها صورت گرفت. از کشت ۲۴ ساعت باکتریها، محلول ۰/۵ مک فارلند تهیه شد که در آزمایشها مورد استفاده قرار گرفت.

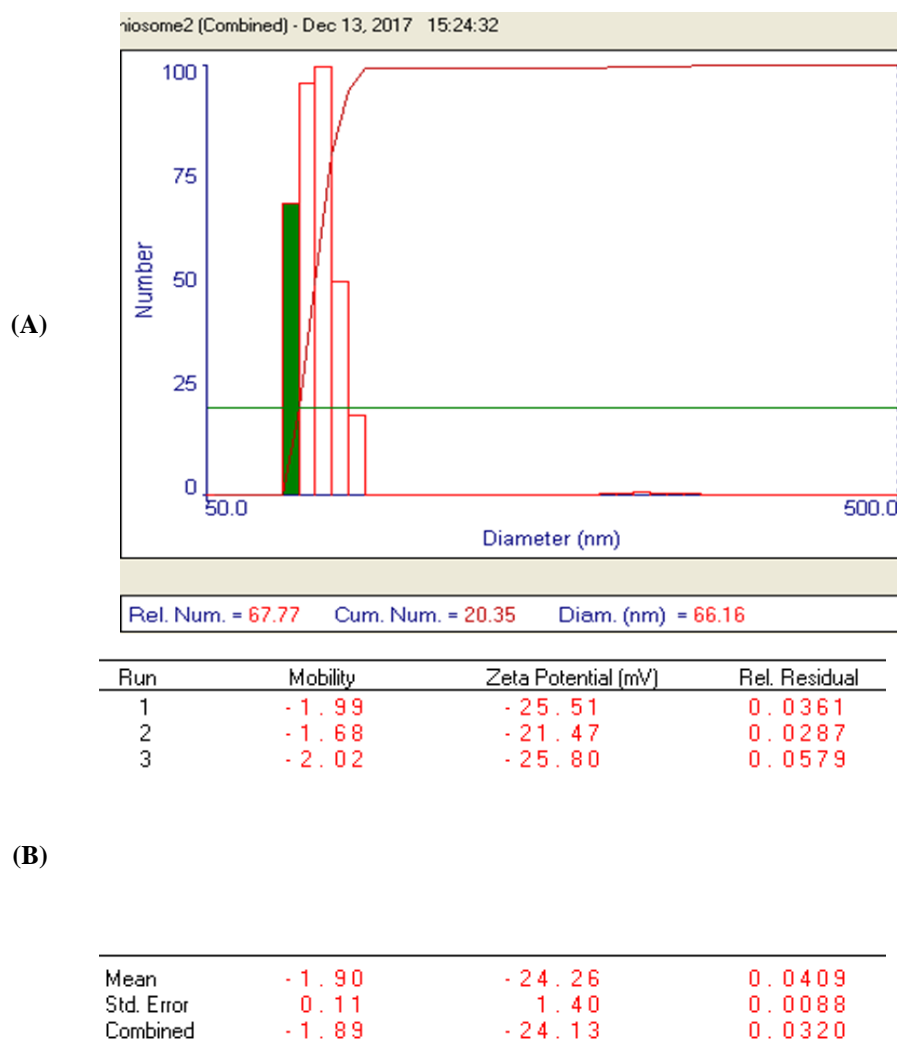


شکل ۲. تصاویر میکروسکوپ SEM نانوذرات نیوزومی تهیه شده با فرمولاسیون اول (A)، دوم (B) و سوم (C).

سوم مناسب‌تر بود، این آنالیز فقط برای نانوذرات نیوزومی تهیه شده با این فرمولاسیون انجام شد. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانوذرات نیوزومی حاوی داروی سفازولین با فرمول سوم به ترتیب ۱۵۳ نانومتر و ۲۴- میلی‌ولت ارزیابی شد. پتانسیل زتا سامانه نیوزومی حاوی دارو پس از ۱۸ روز به ۲۱- میلی‌ولت می‌رسد. اندازه ذرات نیوزومی حاوی سفازولین پس از ۱ ماه، ۲۸۹ نانومتر و پراکندگی آن‌ها ۰/۲۶۴- ارزیابی شد. هم‌چنین بار سطحی نانوذرات پس از یک ماه به ۵۳- میلی‌ولت می‌رسد.

بررسی اندازه و پتانسیل زتا نانوذرات

اندازه ذرات مشخصه مهمی برای سیستم‌های رسانش دارو است که می‌تواند میزان بارگذاری و رهایش را تحت تاثیر قرار دهد (۲۷). اندازه ذرات و پتانسیل زتا نانوسامانه نیوزومی بدون دارو به ترتیب ۱۴۰ نانومتر و ۷/۴۴- میلی‌ولت بود. شاخص پراکندگی این نانوذرات ۰/۱۸۳ ارزیابی شد که نشان می‌دهد اندازه ذرات طیف باریکی دارد. پتانسیل زتا داروی سفازولین نیز ۱۴- میلی‌ولت ارزیابی شد. به دلیل اینکه رهایش دارو از نانوذرات با فرمولاسیون



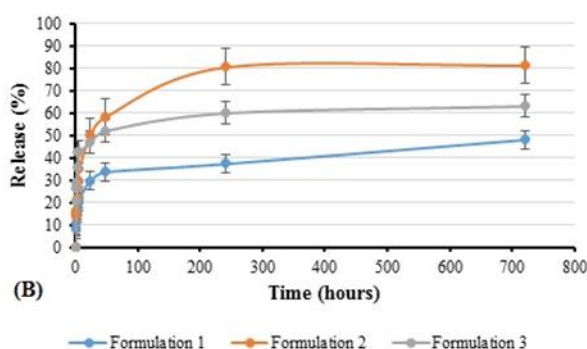
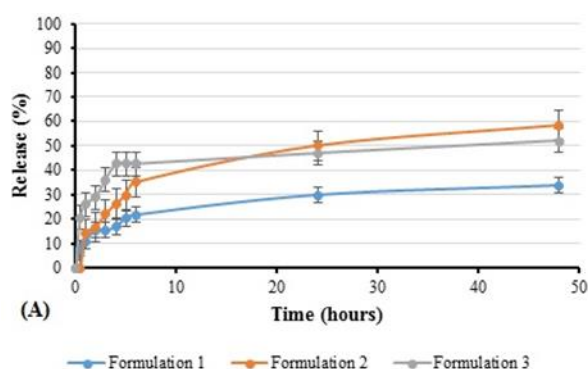
شکل ۳. نتایج بررسی اندازه ذرات (A) و پتانسیل زتا (B) نانوذرات نیوزوم.

سامانه نیوزومی با فرمولاسیون اول، دوم و سوم به ترتیب ۳۳٪، ۱۹/۷٪ و ۴۰/۷۶٪ بود. ساختار و نسبت سورفاکتانت موجب تفاوت در میزان بارگذاری دارو می‌شود. میزان رهایش داروی سفازولین از نانوذرات نیوزوم در شکل ۴ نشان داده شده است. میزان رهایش

بررسی میزان رهایش و بارگذاری دارو

مقدار بارگذاری داروی سفازولین در نانوذرات نیوزوم با استفاده از فرمول ۱ محاسبه شد. میزان داروی بارگذاری‌شده در

در ۶ ساعت اولیه رهایش یافته است. هم‌چنین در طول ۴۸ ساعت، رهایش به ۵۹/۹٪ می‌رسد. رهایش سفازولین در این فرمولاسیون پس از ۱۰ و ۳۰ روز به ترتیب ۸۰٪ و ۸۱/۵٪ است. میزان رهایش سفازولین از نانوذرات تهیه شده با فرمولاسیون سوم، به دلیل نسبت کمتر کلسترول در مقایسه با دو فرمول دیگر، بیشتر است. در ۶ ساعت اولیه ۴۲٪ و پس از ۴۸ ساعت ۵۲٪ دارو از نانوذرات نیوزوم آزاد می‌شود. این رهایش پس از ۱۰ و ۳۰ روز به ۶۰٪ و ۶۳/۱٪ می‌رسد.



شکل ۴. نمودار رهایش سفازولین از نانوذرات نیوزوم پس از ۴۸ ساعت (A) و ۳۰ روز (B).

ضدباکتریایی نانوذرات با فرمولاسیون اول در ۲۴ ساعت ابتدایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از روزهای دیگر بود ($P < 0.05$). با گذشت زمان، دارو در محیط کشت انتشار یافته که باعث کاهش غلظت دارو در نواحی هاله می‌شود. در ادامه با کاهش رهایش دارو از سامانه، رشد باکتری در ناحیه هاله غلبه می‌کند و قطر هاله کوچکتر می‌شود. هم‌چنین در روز اول در پلیت باکتری *S.aureus* هاله کوچکی مشاهده شد که در روزهای بعد از بین رفت.

نانوذرات نیوزوم با فرمولاسیون دوم، در پلیت باکتری *E. coli* هاله عدم رشد به قطر ۱/۸۵ سانتی‌متر ایجاد کرد. میزان بارگذاری و مقدار داروی آزاد شده از سامانه نیوزومی با فرمول دوم کمتر از دو فرمول دیگر بود و هاله ایجاد شده برای این سامانه نیز کوچکتر بود و مدت کوتاه‌تری اثر مهاري بر رشد باکتری دارد. فعالیت ضدباکتریایی نانوذرات نیوزوم با فرمولاسیون دوم در روز اول به‌طور معنی‌داری بیشتر از روزهای دیگر بود ($P < 0.05$). اما فعالیت ضدباکتریایی این نانوسامانه در ۲۴ ساعت اول در مقایسه با نانوذرات تهیه شده با فرمولاسیون اول، معنی‌دار نیست. نانوذرات نیوزوم با فرمولاسیون دوم برای باکتری *S.aureus* هاله قابل اندازه‌گیری ایجاد نمی‌کند.

دارو از نانوذرات تهیه شده با فرمولاسیون اول، در ۶ ساعت اولیه ۲۱/۷٪ است. هم‌چنین در طول ۴۸ ساعت ۳۳٪ از داروی بارگذاری شده رهایش یافته است. در طول ۱۰ روز ۳۷٪ دارو از سامانه رهایش یافته است. رهایش دارو پس از ۱ ماه به ۴۸٪ می‌رسد. سرعت رهایش دارو از نانوذرات در این فرمولاسیون کمتر از سایر فرمولاسیون‌ها بوده است. این امر با میزان کلسترول در ارتباط است؛ زیرا حضور کلسترول در غشا باعث افزایش استحکام غشا و کاهش خروج داروی سفازولین از طریق انتشار می‌شود. در فرمولاسیون دوم، ۳۵٪ از داروی سفازولین بارگذاری شده از سامانه

ارزیابی میکروبی:

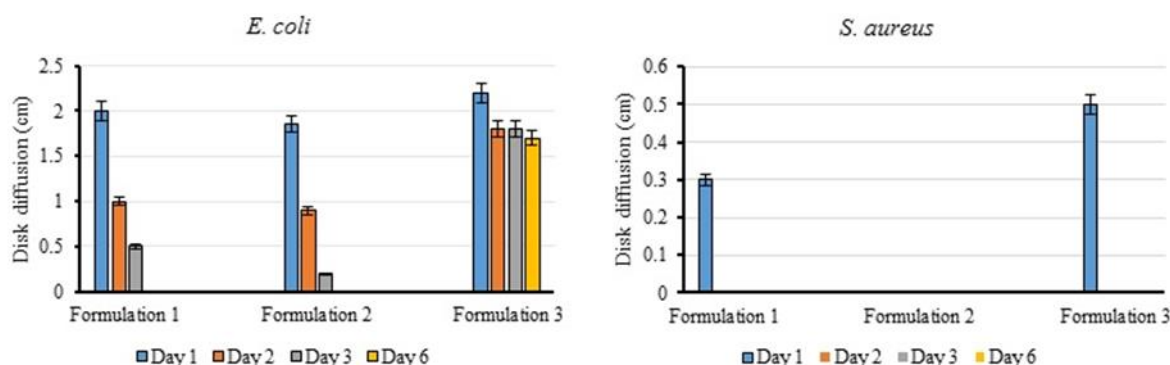
تست MIC

غلظت ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر حداقل غلظت بازدارنده رشد باکتری *E.coli* مورد بررسی تعیین شد. هم‌چنین غلظت ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌عنوان MIC برای باکتری *S.aureus* تعیین شد.

تست هاله عدم رشد

نانوسامانه بدون دارو در هیچ یک از سویه‌های باکتریایی هاله عدم رشد ایجاد نکرد؛ این نتیجه نشان می‌دهد نانوسامانه نیوزوم به تنهایی خاصیت ضدباکتریایی ندارد. فعالیت ضدباکتریایی داروی سفازولین در روز اول به‌طور معنی‌داری بیشتر از نانوسامانه‌های بارگذاری شده با دارو بود ($P < 0.05$). قطر هاله عدم رشد این دارو ۳ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد که با غلظت بیشتر دارو در محیط در ارتباط است. در نانوذرات با فرمولاسیون اول، هاله عدم رشد باکتری *E. coli* در طول ۳ روز به سرعت کاهش یافت و در روز ششم کلنی‌های باکتری مشاهده شد (شکل ۵). فعالیت

دیگر بوده است؛ در نتیجه سامانه با فرمول سوم اثر ضد میکروبی مناسبی طی ۶ روز برابر باکتری *E. coli* دارد. هاله عدم رشد در پلیت باکتری *S. aureus* در روز اول مشاهده می‌شود که به‌طور معنی‌داری از قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط نانوذرات با فرمولاسیون اول بیشتر است ($P < 0.05$). اما این هاله عدم رشد در روزهای بعد از بین رفت.



شکل ۵. نمودار مقایسه نتایج تست هاله عدم رشد برای ۳ فرمولاسیون نانو سامانه بر پلیت *S. aureus* و *E. coli*

بحث

نانوذرات نیوزومی حاوی آنتی‌بیوتیک سفازولین با استفاده از ۳ فرمولاسیون حاوی اسپن ۶۰، توئین ۶۰ و کلسترول در نسبت‌های مختلف سنتز شد و مشخصات نانوذرات و فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

مورفولوژی نانوذرات سنتز شده با هر ۳ فرمولاسیون کروی بود. اندازه این نانوذرات در تصویربرداری با میکروسکوپ SEM و DLS کمی متفاوت بود. این تفاوت می‌تواند به دلیل تفاوت در نحوه آماده‌سازی و نمونه‌گیری نانوذرات باشد. Dharashivkar و همکاران نیز مشاهده کردند، نانوذرات نیوزوم تهیه شده با اسپن ۶۰ و توئین ساختاری کروی دارد (۳۱). یعقوبیان و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده کردند، اندازه نانوذرات نیوزوم سنتز شده با ترکیبات مختلف سورفکتانت بین ۱۱۹ تا ۲۳۶ نانومتر متغیر است. اندازه نانوذرات سنتز شده با اسپن ۶۰ و توئین ۶۰، ۲۱۲ نانومتر بود (۳۲). شاخص پراکندگی نانوذرات عددی بین ۰ تا ۱ است. هرچه این عدد به ۰/۱ نزدیکتر باشد نشانه یکدستی اندازه ذرات است. پتانسیل زتا تمامی نانوذرات در این مطالعه منفی بود. با بارگذاری داروی سفازولین در سامانه نیوزومی، پتانسیل زتای سامانه از -۷/۴ به -۲۴ میلی‌ولت تغییر یافت. این تغییر، با پتانسیل زتای داروی سفازولین در ارتباط

رشد باکتری *E. coli* تیمار شده با نانوسامانه سوم نیز کاهش یافت. در روز اول هاله عدم رشد این نانوسامانه ۲/۲ سانتی‌متر بود که این مقدار در مقایسه با فرمولاسیون اول معنی‌دار نبود. اما قطر هاله عدم رشد نانوذرات با فرمولاسیون سوم تا روز ششم تقریباً یکسان باقی ماند و فعالیت ضدباکتریایی آن به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر نانوذرات نیوزومی بود ($P < 0.05$). میزان بارگذاری اولیه دارو و میزان رهایش دارو از این سامانه بیشتر از دو فرمول

از جمله مزایای آنتی‌بیوتیک‌های نانو نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمولی می‌توان به افزایش حلالیت و جلوگیری از تخریب زودرس در بدن اشاره کرد. بنابراین، اثر درمانی مورد نظر می‌تواند با بهبود زیست‌دسترسی پذیری در دوزهای کمتر به دست آید (۴). فرضیه‌های بسیاری در مورد مکانیسم‌های ضد میکروبی نانوذرات آنتی‌بیوتیک‌ها وجود دارد؛ به نظر می‌رسد افزایش نسبت سطح به حجم سبب افزایش سطح تماس با باکتری می‌شود. همچنین این آنتی‌بیوتیک‌ها سبب تولید مقدار زیادی گونه‌های فعال اکسیژن شده و فرمولاسیون منحصربه‌فرد آن‌ها خروج دارو از باکتری را کاهش می‌دهد (۲۸). در سال‌های اخیر توجهات بسیاری به سامانه‌های دارورسانی وزیکولی، مانند لیپوزوم و نیوزوم جلب شده است. مطالعات نشان می‌دهند، نیوزوم‌ها سیستم‌های دارورسانی موثر، هدفمند و با اثری طولانی مدت در مقایسه با لیپوزوم‌ها هستند (۲۹). نیوزوم‌ها به دلیل ماهیت غیریونی، سازگاری بیشتر و سمیت کمتری در مقایسه با دیگر سیستم‌های دارورسان ایجاد می‌کنند (۳۰). مطالعات نشان می‌دهد نوع و غلظت سورفکتانت‌های مورد استفاده در سنتز نیوزوم‌ها، نقش مهمی در محصورسازی و رهایش دارو از نانوذرات دارند. با افزایش طول زنجیره سورفکتانت، میزان محصورسازی این ترکیبات افزایش می‌یابد (۲۹). در این مطالعه

و حاوی کلوسترول کمتری در غشا خود هستند، میزان بیشتری دارو را نسبت به نیوزوم‌های دو فرمول دیگر، در تمام مدت رهایش، آزاد می‌کنند.

نانوذرات حاوی سفازولین به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) رشد باکتری *E. coli* را بیشتر از باکتری *S. aureus* مهار می‌کنند. این تفاوت، با تفاوت در ساختار دیواره باکتریایی در ارتباط است. باکتری‌ها با مکانیسم‌های دفاعی خود مانند تولید بتالاکتاماز و افزایش بیان پمپ‌های وابسته به غلظت، ساختار آنتی‌بیوتیک را تخریب کرده و سبب کاهش غلظت آن در محیط می‌شوند. سپس باکتری‌هایی که از اثر دارو فرار کرده‌اند به سرعت تکثیر می‌شود. یکی از مهمترین اثرات بارگذاری آنتی‌بیوتیک در نانوذرات، پایداری و حفظ ساختار دارو است (۳۶، ۳۷). سامانه سنتز شده با فرمولاسیون دوم، به دلیل بارگذاری و مقدار رهایش کمتر، هاله عدم رشد کوچکتری ایجاد می‌کند رهایش کم دارو در این فرمولاسیون نیز به باکتری‌ها فرصت تکثیر می‌دهد؛ به همین دلیل قطر هاله به سرعت کاهش می‌یابد. نانوذرات نیوزومی سنتز شده با فرمولاسیون سوم به دلیل بارگذاری بیشتر سفازولین از روز نخست اثر مهاری بیشتری در برابر هر دو سویه باکتری دارد. با رهایش مداوم و کنترل شده سفازولین از این نانوذرات، اثر ضدباکتریایی با گذشت زمان نیز مشاهده شود. مکانیسم دیگری که سبب افزایش فعالیت ضدباکتریایی آنتی‌بیوتیک بارگذاری شده در نانوذرات می‌شود، نفوذ نانوذرات به سلول باکتریایی است. نیوزوم‌ها از طریق همجوشی و جذب با سلول‌های باکتریایی ارتباط برقرار می‌کنند. همچنین کاهش اندازه نیوزوم‌ها سبب برهمکنش بهتر با غشا باکتری شده و مقادیر MIC کاهش می‌یابد (۳۵، ۳۸). دو لایه لیپیدی نیوزوم‌ها با غشای خارجی باکتری‌ها ترکیب شده و با رهایش دارو در سلول، تجمع دارو در سلول باکتریایی افزایش می‌یابد. تجمع نانوذرات و دارو در سلول‌های باکتریایی سبب بی‌نظمی در غشا سیتوپلاسمی و پارگی آن نیز می‌شوند (۳۹). همچنین با ورود بهینه این آنتی‌بیوتیک به سلول‌های باکتریایی و اختلال در عملکرد پروتئین‌ها، سنتز دیواره پپتیدوگلیکان به‌طور موثری مهار می‌شود (۴۰). در جدول ۲، مقایسه اثر ضدباکتریایی نانوسامانه‌های حاوی آنتی‌بیوتیک آورده شده است.

است. این دارو ابتدا داخل بخش آبدوست سامانه نیوزومی قرار می‌گیرد و پس از گذشت زمان به علت پویایی غشاء و پایداری بیشتر سیستم، در غشا نیز قرار گرفته و باعث منفی‌تر شدن پتانسیل زتا می‌شود. پتانسیل زتای بیشتر از ± 30 میلی‌ولت، نشانگر پایداری خوب سامانه و پتانسیل زتا ± 20 میلی‌ولت پایداری کم و در محدوده ± 5 میلی‌ولت نشان از ناپایداری نانوسامانه است (۲۲، ۳۳). پتانسیل زتا نانوسامانه سنتز شده، پایداری متوسط سامانه را نشان می‌دهد. همچنین بارگذاری دارو در سامانه سبب افزایش اندازه ذرات از 140 به 153 نانومتر می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد، اندازه پتانسیل زتا نانوذرات نیوزومی پس از بارگذاری داروی کاروادیلول به 25 - میلی‌ولت می‌رسد. همچنین بازگذاری داروی کاروادیلول در این سامانه باعث افزایش اندازه ذرات به 167 نانومتر می‌شود (۲۲). پس از یک ماه اندازه نانوذرات افزایش یافته و به 289 نانومتر می‌رسد اما شاخص پراکندگی نانوذرات یکنواختی اندازه ذرات را پس از یک ماه نشان می‌دهد. Taymouri و همکاران در سال 2017 مشاهده کردند، اندازه نانوذرات نیوزومی پس از یک ماه از 167 به 389 نانومتر افزایش می‌یابد. شاخص پراکندگی ذرات از 0.06 به 0.09 افزایش یافته که به معنی افزایش اندازه و پراکندگی زیاد اندازه ذرات است. همچنین پتانسیل زتا این نانوذرات از 25 - به 17 - میلی‌ولت تغییر کرد (۲۲).

مقدار سفازولین بارگذاری شده در سامانه نیوزومی فرمولاسیون ۳ در مقایسه با دو فرمول دیگر بیشتر بود ($40/76\%$). Uchegbu و همکاران مشاهده کردند بازده محصورسازی داروی دکسورویسیسین از نانوذرات نیوزوم متشکل از اسپن 60 ، کلوسترول و $choleth24$ با نسبت $45:45:10$ برابر 35% است (۱۴). اندازه و خصوصیات فیزیکوشیمیایی مولکول دارو عامل کلیدی در میزان محصورسازی و رهایش دارو از سامانه است. همچنین روش سنتز نیوزوم بازده محصورسازی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. رهایش دارو از نانوسامانه نیوزوم در فرمولاسیون اول آهسته بود. مقایسه نتایج آزمون رهایش با سایر مطالعات، مطابقت دارد (۱۳، ۳۴، ۳۵). با کاهش میزان کلوسترول از فرمول اول به سوم، سرعت و میزان رهایش افزایش می‌یابد. کلوسترول در ساختار غشای نیوزومی باعث افزایش استحکام و کاهش سرعت خروج دارو می‌شود. در این آزمایش، نیوزوم‌ها با فرمول سوم که دارای بیشترین بارگذاری دارو

جدول ۲. مقایسه اثر ضدباکتریایی نانوسامانه‌های آنتی‌بیوتیک بر رشد باکتری‌های گرم مثبت و منفی.

آنتی‌بیوتیک	نانوسامانه	نتایج	منبع
نورفلوکساسین	نانوذرات لیپیدی جامد	نانوسامانه حاوی آنتی‌بیوتیک در مقایسه با داروی آزاد رشد باکتری <i>E. coli</i> را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد و این اثر پس از ۹ ماه ثابت است (مقدار MIC = ۰/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر).	(۴۱)
فلورفنیکول	نانوذرات لیپیدی جامد	مقدار MIC نانوسامانه حاوی آنتی‌بیوتیک برای باکتری <i>E. coli</i> و <i>S. aureus</i> به ترتیب ۳ و ۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. این نانوسامانه مرگ و میر موش‌های مبتلا به باکتری <i>E. coli</i> را در مقایسه با داروی آزاد به‌طور معنی‌داری کاهش می‌شود.	(۳۷)
سفازولین	نیوزوم	نیوزوم‌های حاوی سفازولین در غلظت‌های ۱۲۸ و ۲۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بیوفیلم‌های ۳ و ۵ روزه <i>S. aureus</i> را حذف کردند.	(۴۲)
سفازولین و ونکومايسين	لیپوزوم‌های یک لایه	استفاده از این نانوسامانه سبب کاهش ۷/۹ برابر جمعیت باکتری‌های <i>S. aureus</i> می‌شود.	(۴۳)
سفازولین	نیوزوم	مقدار MIC نانوسامانه حاوی آنتی‌بیوتیک برای باکتری <i>E. coli</i> و <i>S. aureus</i> به ترتیب ۴ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است.	مطالعه حاضر

نتیجه‌گیری

استفاده روز افزون از حامل‌های دارویی جدید راهکاری مورد توجه برای افزایش بازده آنتی‌بیوتیک، کاهش دوز و در نتیجه کاهش خطر گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی است. در این پژوهش نانوذرات نیوزومی حاوی سفازولین با روش آبرسانی لایه نازک تهیه شدند. نانوذرات نیوزومی با سه فرمولاسیون و نسبت‌های متفاوت کلسترول، اسپن ۶۰ و توپین ۶۰ ساخته شدند. بازده محصورسازی آنتی‌بیوتیک در نانوذرات با فرمولاسیون اول، دوم و سوم به ترتیب ۳۳٪، ۱۹/۷٪ و ۴۰/۷۶٪ بود. مورفولوژی نانوذرات سنتز شده کروی و اندازه و پتانسیل زتا ذرات به ترتیب ۱۵۴ نانومتر و ۲۴- میلی‌ولت ارزیابی شد. رهایش سفازولین از نانوسامانه نیوزومی اول، دوم و سوم در طول ۳۰ روز ۴۸٪، ۸۱/۵٪ و ۶۳٪ بود. نانوسامانه نیوزومی تهیه شده با فرمولاسیون سوم اثر ضدباکتریایی مناسبی در طول ۶ روز برابر باکتری *اشریشیا کلی* نشان می‌دهد و قطر هاله عدم رشد آن تقریباً ثابت می‌ماند. حداقل غلظت بازدارنده برای باکتری *اشریشیا کلی* (*E. coli*, ATCC 9637) و

استافیلوکوکوس اورئوس (*S. aureus*, ATCC 12600) به ترتیب ۴ و ۱۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. نانوسامانه نیوزومی با الحاق با غشای خارجی باکتری‌ها، وارد سلول باکتریایی شده و با رهایش مداوم و کنترل شده آنتی‌بیوتیک از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کند.

سپاسگزاری و منابع مالی

نویسندگان از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) (پروژه ۹۶۰۰۲۰۹۴) برای حمایت مالی از این پژوهش قدردانی می‌کنند.

تعارض در منافع

در انجام مطالعه بین نویسندگان تعارضی در منافع وجود ندارد.