مجله علوم پزشکی رازی دوره ۳۰، شماره ۳، خرداد ۱۴۰۲ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

فرمولاسیون و سنتز نانونیوزوم حاوی ناپروکسن: بررسی اثرات ضدمیکروبی و ضدبیوفیلمی آن بر روی سویه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس و آنالیز بیان ژن بیوفیلم: یک مطالعه تجربی

شمیم اشکذری: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

سروناز فلسفی: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

سهامه محبی: گروه زیست فناوری، دانشکده علوم پایه، موسسه آموزش عالی آل طه، تهران، ایران

امیر میرزایی: گروه زیست شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

ندا موسوی نیری: گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (* نویسنده مسئول)
n.mousavi@iautmu.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: یکی از سیستم‌های دارو رسانی هدفمند نانونیوزوم‌ها می‌باشند که اخیرا توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. هدف از این مطالعه، سنتز نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن، بررسی اثرات ضدمیکروبی و ضدبیوفیلمی آن و آنالیز بیان ژن بیوفیلم *icaB* می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی، فرمولاسیون‌های مختلف نانونیوزوم‌های انکپسوله شده با ناپروکسن سنتز گردید. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانونیوزوم‌های سنتز شده شامل میزان درصد انکپسولاسیون، میزان رهایش دارو، اندازه و شکل ظاهری مورد بررسی قرار گرفت. اثرات ضدمیکروبی و ضدبیوفیلمی نانونیوزوم‌های سنتز شده به ترتیب توسط روش میکرودایلوشن و میکروتیترپلیت انجام شد. در انتها میزان بیان ژن بیوفیلم *icaB* توسط روش Real Time PCR مورد بررسی قرار گرفت. برای آنالیز داده‌ها از آزمون واریانس یک طرفه استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد فرمولاسیون بهینه (نسبت لیپید به دارو ۱۰ و نسبت سورفکتانت به کلسترول ۲) دارای اندازه میانگین ۱۲۵/۳ نانومتر، کروی شکل و درصد انکپسولاسیون ۶۶/۸۴٪ بود. هم چنین نتایج نشان داد که میزان رهایش ناپروکسن از نانونیوزوم حاوی دارو و ناپروکسن آزاد به ترتیب برابر با ۶۸/۶۷٪ و ۱۰۰٪ در مدت زمان ۷۲ ساعت بود. نتایج نشان داد که نانونیوزوم حاوی ناپروکسن دارای اثرات ضدمیکروبی و ضدبیوفیلمی معنادارتری نسبت به داروی آزاد بود ($p<۰/۰۵$) و بطور معنادارتری میزان بیان ژن بیوفیلم *icaB* را کاهش داد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج، نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن دارای اثرات ضدمیکروبی و ضدبیوفیلمی معنادارتری نسبت به ناپروکسن آزاد می باشد. بنابراین می‌توان در آینده با مطالعات بیشتر از نانونیوزوم‌ها به عنوان یک سیستم دارورسانی هدفمند جهت اهداف درمانی ضدمیکروبی استفاده نمود.

کلیدواژه‌ها
نانونیوزوم،
ناپروکسن،
ضدمیکروبی،
ضدبیوفیلمی،
بیان ژن *icaB*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۹
تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۰۳/۲۰

تعارض منافع: گزارش نشده است.
منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:
Ashkezari S, Falsafi S, Mohebbi S, Mirzaie A, Mousavi-Niri N. Formulation and preparation of naproxen loaded nanoniosomes: Evaluation of antimicrobial and anti-biofilm effects on clinical strains of *Staphylococcus aureus* and analysis of biofilm gene expression: An Experimental Study. Razi J Med Sci. 2023;30(3): 229-243.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

Razi Journal of Medical Sciences. 2023;30(3):229-243. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Formulation and preparation of naproxen loaded nanoniosomes: Evaluation of antimicrobial and anti-biofilm effects on clinical strains of *Staphylococcus aureus* and analysis of biofilm gene expression: An Experimental Study

Shamim Ashkezari: Department of Microbiology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Sarvenaz Falsafi: Department of Microbiology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
Sohameh Mohebbi: Department of Biotechnology, Faculty of Basic Science, Ale-Taha Institute of higher education, Tehran, Iran
Amir Mirzaie: Department of Biology, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran
Neda Mousavi-Niri: Department of Biotechnology, Faculty of Advanced Science and Technology, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran, (* Corresponding Author) n.mousavi@iautmu.ac.ir

Abstract

Background & Aims: *Staphylococcus aureus* is one of the human pathogens that causes a wide range of diseases such as endocarditis, blood, bone, skin and soft tissue infections (1). One of the resistant strains of this bacterium is methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* (MRSA), which has been reported as a serious risk by the Centers for Disease Control and Prevention. One of the pathogenic mechanisms and antibiotic resistance of this bacterium is the formation of biofilm, which causes this bacterium to bind to different surfaces (2). Biofilm-forming strains have become resistant to many antibiotics, so that biofilm-forming strains form extracellular matrices that are immune to the immune system and antibiotics. Various genes are involved in biofilm production, one of which is the *icaB* gene, which plays a key role in the production of poly N-acetyl glucose amine and biofilm production. The design of new antimicrobial drugs for the treatment of this bacterium is important, so finding a suitable treatment option for the treatment of infections caused by this bacterium is one of the challenges of researchers (3). Recent advances in nanotechnology have suggested alternative solutions, such as drug delivery systems, that increase drug specificity and efficiency (4). One of these drug delivery systems is nanosystems, which are composed of bilayer nonionic surfactants. Due to the importance of nanosystems, the aim of this study was to synthesize nanoparticles containing naproxen, to investigate their physicochemical properties and their antimicrobial and antifouling effects against Staphylococcus aureus strains.

Methods: Nanosomes containing naproxen were synthesized by thin layer hydration method. The confinement efficiency is indicative of the drug encapsulated in the nanosystem structure relative to the drug used. For this purpose, the nanonosomal formulation was first centrifuged at 4 ° C at 14000 g for 45 minutes. The nanosystem containing the drug precipitates and the free drug remains in the supernatant. The absorbance of the supernatant sample at 270 nm was read by a spectrophotometer and the amount of free drug was calculated from the initial value. The Physico-chemical characteristics of prepared nanoniosome encapsulated naproxen was determined using scanning electron microscopy (SEM), Dynamic light scattering (DLS). The in vitro drug release study was done using dialysis bag (6). The Staphylococcus aureus strains were recovered from 100 clinical samples and their antibiotic resistance patterns were studied using disk diffusion method. The antibacterial activity of nanoniosome loaded naproxen and free naproxen were investigated using well diffusion and micro-dilution methods (7). The *icaB* biofilm gene expression analysis in S. aureus isolates which are treated with nanoniosome loaded naproxen and free naproxen were examined using Real Time PCR methods (8).
Draw diagrams and Statistical analysis was performed by GraphPad Prism software version 7 and SPSS version 23, and one-way analysis of variance was used for statistical analysis and $p < 0.05$ was considered significant.

Keywords
Nanoniosomes,
Naproxen,
Antimicrobials,
Anti-biofilm,
icaB gene expression

Received: 08/04/2023
Published: 10/06/2023

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

Results: In this study, using different molar ratios of surfactant, cholesterol and drug, different formulations of nanosystems containing naproxen were synthesized. The optimal niosome size synthesis was measured by DLS method. The results of electron microscopy (SEM) show that the synthesized nanonosomes have a spherical structure. In this study, the dialysis bag method was used to evaluate the drug release pattern. Figure 2 shows the pattern of naproxen release from nanosystems and free naproxen over 72 hours.
Out of 100 clinical specimens, 15 specimens of Staphylococcus aureus were isolated and identified using microbiological methods. The results of antibiotic resistance profile test showed that out of 15 strains, 10 strains were methicillin resistant (MRSA).
The antibacterial activity of nanoniosome encapsulated naproxen and free naproxen showed that the MIC was reduced by 2 to 4 times. The results of the well diffusion method showed that nanoniosomes containing naproxen had more significant antimicrobial power than free naproxen, so that the diameter of the growth inhibition zone increased with increasing nanosystem concentration. Real-Time PCR was used to evaluate the effect of nanoniosoms containing naproxen and free naproxen on *icaB* biofilm gene expression in Staphylococcus aureus strains. Also, after treating Staphylococcus aureus strains with naproxen-containing nanosystem sub-inhibitory concentration, it was shown that the expression of *icaB* gene was significantly reduced compared to the *16S rRNA* reference gene ($p < 0.05$).
Conclusion: In this study, naproxen was encapsulated as a drug compound in the nanoniosome structure and its physical and chemical properties including size, morphology, drug enclosure percentage and drug release were studied. The results of this study showed that the synthesized nanoniosome in the optimal formulation had a spherical shape, the average size was 125.3 nm with a confinement percentage of 66.84%. Drug release results also showed that naproxen in the formulated form in nanonosomes has a much slower release pattern than free naproxen, which is a suitable feature of a drug delivery system. The results of the antimicrobial test showed that naproxen-containing nanoniosome had more significant antimicrobial effects than free naproxen compared to free naproxen, reducing the MIC by 2 to 4 times. One of the antimicrobial mechanisms of nanoniosome containing naproxen is the fusion of nanoniosome with bacterial cell membranes, which can deliberately release the drug into the cytoplasm of the cell and cause bacterial cell death (10). The results of this study showed that nanoparticles containing naproxen have more significant anti-biofilm effects than free naproxen compared to free naproxen and can significantly reduce the expression of biofilm gene (11). One of the reasons for the anti-biofilm effects of naproxen-containing nanosystems is the greater penetration of naproxen-containing nanosystems into the biofilm structure, which can cause the death of bacteria, a decrease in the number of bacteria, and the conversion of biofilms into planktonic cells (12).

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Ashkezari S, Falsafi S, Mohebbi S, Mirzaie A, Mousavi-Niri N. Formulation and preparation of naproxen loaded nanoniosomes: Evaluation of antimicrobial and anti-biofilm effects on clinical strains of *Staphylococcus aureus* and analysis of biofilm gene expression: An Experimental Study. Razi J Med Sci. 2023;30(3): 229-243.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

مقدمه

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از پاتوژن‌های انسانی می‌باشد که طیف وسیعی از بیماری‌ها مانند عفونت‌های اندوکاردیت، عفونت خون، استخوان، پوست و بافت نرم را ایجاد می کند (۱). مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک باعث بروز سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک *استافیلوکوکوس اورئوس* شده است (۲). یکی از انواع سویه‌های مقاوم این باکتری، سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین *استافیلوکوکوس اورئوس* (MRSA) می‌باشد که به عنوان خطر جدی توسط مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها گزارش شده است، بطوری که در سال ۲۰۱۷ تا ۲۰۲۰، ۱۰۶۰۰ مورد مرگ از میان ۳۲۳۷۰۰ بیمار گزارش شده است (۳). هم‌چنین در میان بیماران سوختگی، ۵۵٪ عفونت *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین گزارش شده است (۴). یکی از مکانیسم‌های بیماری‌زایی و مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتری، تشکیل بیوفیلم می‌باشد که باعث اتصال این باکتری به سطوح مختلف می‌شود (۵). هم چنین مطالعات In vivo نشان می‌دهد که تشکیل بیوفیلم در این باکتری باعث تاخیر بهبود بیماری می‌شود و عفونت مزمن ایجاد می‌شود (۶). سویه‌های تشکیل دهنده بیوفیلم به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند، بطوریکه سویه‌های تشکیل دهنده بیوفیلم ماتریکس خارج سلولی تشکیل می‌دهند که از سیستم ایمنی و آنتی‌بیوتیک‌ها در امان می‌مانند (۷). این ماتریکس‌های خارج سلولی مانع از نفوذ آنتی بیوتیک‌ها به داخل ساختار سلولی شده و بازده عملکردی آنتی بیوتیک را کاهش می‌دهند (۸). ژنهای مختلفی در زمینه تولید بیوفیلم نقش دارند که یکی از این ژنهای درگیر در تشکیل بیوفیلم، ژن *icaB* می باشد که نقش اساسی در تولید پلی N-استیل گلوکز آمین و تولید بیوفیلم دارد (۹).

طراحی داروهای ضدمیکروبی جدید برای درمان این باکتری حایز اهمیت می‌باشد، بطوریکه یافتن گزینه درمانی مناسب برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری، یکی از چالش‌های محققان می‌باشد (۱۰). در سال‌های اخیر، برخی از مطالعات اثرات ضدمیکروبی داروهای غیر از آنتی‌بیوتیک شامل داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی مانند ناپروکسن را برای درمان نشان داده‌اند (۱۱). عموما این داروها اغلب برای درمان آرتریت و تروما بکار می‌رود. برخی از مطالعات، اثرات ضدمیکروبی معنادار ناپروکسن را علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی نشان می‌دهد (۱۲). هم چنین توانایی مهار بیوفیلم توسط ناپروکسن و سایر داروهای ضدالتهابی نیز گزارش شده است (۱۳). مکانیسم عملکرد ضدمیکروبی ناپروکسن، تاثیر آنها بر تمامیت ساختار غشای سلولی می‌باشد، بطوریکه خروج یون پتاسیم درون سلولی و تغییر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی سطحی باکتری‌ها را نشان داده شده است (۱۴). هم چنین مهار سنتز DNA، مهار همانندسازی و مهار ترمیم غشای باکتری نیز گزارش شده است (۱۵). یکی از راهکار های جایگزین در مانی، استفاده از سیستم‌های دارورسانی به منظور افزایش بازدهی داروهای موجود است (۱۶). اخیرا پیشرفت ها در نانوتکنولوژی راهکارهای جایگزین مانند سیستم‌های دارورسانی را پیشنهاد داده است که اختصاصیت و بازدهی داروها را افزایش می‌دهند. یکی از این سیستم‌های دارورسانی، نانونیوزوم‌ها می‌باشند که از سورفکتانت‌های غیریونی بصورت دولایه تشکیل شده‌اند (۱۷). آنها نسبت به سایر سیستم‌های دارورسانی پایدارتر، تجزیه پذیر، سازگار زیستی، غیر ایمنی‌زا و دارای سمیت سلولی پایین هستند و نیاز به شرایط خاص برای نگه داری نمی باشند (۱۸). هم چنین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانونیوزوم ها و بازدهی آنها با استفاده از تغییر مواد تشکیل دهنده آن می‌تواند تغییر داده شود تا به سیستم دارورسانی دلخواه تبدیل شود (۱۹). با توجه به اهمیت نانونیوزوم‌ها، هدف از این مطالعه، سنتز نانونیوزم‌های حاوی ناپروکسن، بررسی خصوصیات فیزیکی- شیمیایی و اثرات ضدمیکروبی و ضدبیوفیلمی آن علیه سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد.

روش کار

تهیه نانونیوزوم‌ها به روش هیدراسیون لایه نازک:

برای تهیه نمونه ها، ابتدا مقادیر مشخص از کلسترول، اسپن ۶۰ و توئین ۶۰ در مخلوط حلال های کلروفرم و متانول (نسبت ۲ به ۱) حل شد. سپس کاملا محلول حاصل هم زده شد تا اجزا به طور کامل حل شوند. محلول حاصل در بالن مخصوص روتاری ریخته و

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

تحت شرایط مورد نظر (دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و دور ۱۵۰ rpm) تحت خلا قرار داده می‌شود تا حلال کاملا تبخیر شود. سپس در مرحله هیدراسیون، به فیلم لیپیدی تهیه شده، مقدار ۱۰ سی سی از بافر فسفات حاوی ۱ میلی گرم ناپروکسن (1 mg/mL) در دمای بالای انتقال فاز (۶۰ درجه سانتی گراد) اضافه شد و با استفاده از روتاری با سرعت ۱۲۰ rpm به مدت نیم ساعت برای هیدراته شدن مناسب چرخید. پس از اتمام مراحل هیدراسیون، به منظور کاهش اندازه ذره‌ای، عمل سونیکاسیون به مدت ۷ دقیقه انجام شد (۲۰).

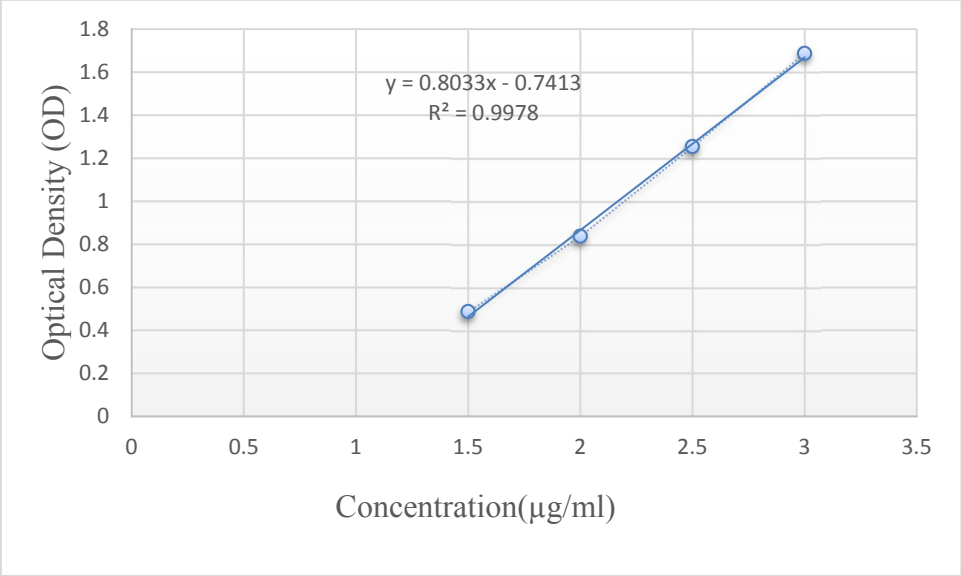
بررسی کارایی محصور سازی ناپروکسن در نانونیوزوم: کارایی محصورسازی بیانگر نسبت به داروی محصور شده در ساختار نانونیوزوم نسبت به داروی اولیه مورد استفاده است. بدین منظور، ابتدا فرمولاسیون نانونیوزومی در دمای ۴ درجه سانتی گراد و با سرعت g ۱۴۰۰۰ به مدت ۴۵ دقیقه تحت سانتریفیوژ قرار داده شد. نانونیوزوم حاوی دارو رسوب کرده و داروی آزاد در سوپرناتانت باقی می ماند. جذب نمونه سوپرناتانت در طول موج ۲۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانش شد (شکل ۱) و مقدار داروی آزاد محاسبه شد و از مقدار اولیه کم و از روی آن میزان درصد کارایی محصورسازی محاسبه شد (۲۱):

میزان داوری آزاد-) =میزان درصد محصورسازی

100×((میزان دارو اولیه) /(میزان دارو اولیه

هم چنین فرمولاسیون های مختلف نانونیوزوم بر اساس غلظت مولی Span 60/Tween 60 تهیه گردید و اندازه نانونیوزوم های سنتز شده و میزان درصد انکپسولاسیون نیز انجام گرفت.

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نانونیوزوم های سنتز شده: به منظور بررسی خصوصیات مورفولوژی نانونیوزوم سنتز شده بارگذاری شده با ناپروکسن از روش میکرو سکوپ الکترونی نگاره (SEM) استفاده گردید (پژوهشکده نفت دانشگاه تهران). هم چنین به منظور تعیین سایز از روش پراکندگی نور دینامیکی (DLS) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری قطر دینامیکی نانوذرات (سایز) از دستگاه زتا سایزر (DLS) استفاده شده است. جهت بررسی سایز ذرات در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد از این دستگاه مجهز به لیزر سبز با طول موج ۶۳۳ نانومتر به روش تفرق دینامیک نور استفاده گردید. اندازه نانوذره در واقع میانگین قطر ذرات است که به صورت Z-Average و بر حسب نانومتر نشان داده می‌شود. جهت انجام SEM، سوسپانسیون نانوذره تهیه شده در آب دیونیزه به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق شده، یک قطره از نمونه بر روی یک فیلم هادی نظیر آلومینیوم پخش شده و در دمای اتاق خشک گردید (۲۲).



شکل ۱- نمودار استاندارد ناپروکسن

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

بررسی رهایش دارو: بررسی رهایش دارو به صورت دینامیک مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. بدین صورت که در کیسه دیالیز مقدار ۲ میلی لیتر از نانوحامل نیوزومی بارگذاری شده با دارو و هم‌چنین دارو آزاد (به صورت جداگانه) قرار داده می شود. هر یک از کیسه ها به صورت معلق در مزور محتوی ۵۰ میلی لیتر PBS در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده می شوند. مزورهای دارای کیسه محتوی نانوحامل نیوزوم حاوی دارو و محلول دارو بر روی همزن قرار داده می شوند. در ساعت های مختلف از مزور نمونه گیری انجام می شود، بدین صورت که مقدار ۱ میلی لیتر از PBS حاوی کیسه دیالیز برداشته و ۱ میلی لیتر PBS با دمای ۳۷ درجه جایگزین آن می شود. عمل نمونه گیری تا ۷۲ ساعت در فواصل زمانی مشخص (۱، ۲، ۴، ۸، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) انجام می‌شود. در پایان، جذب نوری نمونه‌ها توسط دستگاه UV اسپکتروفوتومتر در طول موج ۲۷۰ نانومتر به روش اسپکتروفتومتر (شکل ۱) نمودار درصد آزاد سازی تجمعی ناپروکسن از نانونیوزوم در طی مدت زمان ۷۲ ساعت رسم شد (۲۳).

جداسازی و شناسایی سویه های استافیلوکوکوس اورئوس: در این مطالعه، تعداد ۱۰۰ نمونه مشکوک به *استافیلوکوکوس اورئوس* از بیماران مراجعه کننده بیمارستانهای مختلف (امام خمینی، پارس و شهدای یافت آباد) شامل ادرار، زخم، مایع مغزی-نخاعی، خون و خلط جمع آوری شدند. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه تحقیقاتی میکروبشناسی دانشگاه آزاد واحد تهران پزشکی روی محیط‌های بلاد آگار (مرک-آلمان) و مانیتول سالت آگار (مرک-آلمان) کشت داده شدند و در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. بعد از تهیه لام و مشاهده کوکسی های گرم مثبت، تست های بیوشیمیایی معمول رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، کواگولاز، DNase ، محیط کشت برد پارکر (Baird parker agar) و تخمیر مانیتول انجام شد (۲۴). در این مطالعه از سویه استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 25923 استفاده گردید.

بررسی الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* توسط روش دیسک دیفیوژن بر اساس استاندارد Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) انجام گرفت (۲۵). ابتدا غلظت نیم مک فارلند از تمامی سویه‌ها تهیه شد و در محیط کشت مولرهینتون آگار کشت داده شد و میزان حساسیت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (30 µg)، جنتامایسین ((10 µg)، آمیکاسین (30 µg)، تتراسایکلین (10 µg)، سفوپیم (30 µg)، سیپروفلوکساسین (5 µg)، سفوکسی سیتین (30 µg)، لووفلوکساسین (30 µg) و تری متوپریم سولفامتاکسازول (30 µg) (پادتن طب-ایران) بررسی شد.

بررسی اثرات ضدمیکروبی

۱- روش میکرودایلوشن: به منظور بررسی اثرات ضدمیکروبی نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن از روش میکرودایلوشن در پلیت های ۹۶ خانه‌ای بر طبق استاندارد CLSI استفاده شد. به این منظور ابتدا سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* جدا سازی شده در محیط کشت مولر هینتون براث به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس غلظت‌های مختلف از نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد شامل ۳/۱۲۵ تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تهیه شد. به دنبال آن، ۹۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث (MHB) و ۵ میکرولیتر از کشت میکروبی و ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد (۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر تا ۳/۱۲۵ میکروگرم در میلی لیتر) در داخل چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای اضافه گردید. بعد از انکوباسیون در مدت زمان ۲۴ ساعت، میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) تعیین شد. در واقع، مقدار MIC به عنوان کمترین غلظت مهارکننده رشد باکتری در نظر گرفته شد (۲۶). این سه تست به صورت ۳ بار تکرار انجام گرفت.

۲- روش انتشار چاهک: به منظور بررسی حساسیت سویه های جداسازی شده استافیلوکوکوس اورئوس، از روش انتشار چاهک استفاده شد. ابتدا سویه های جداسازی شده را در لوله حاوی محیط نوترینت براث

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

کشت داده و رسوب میکروب توسط سانتریفیوژ جدا شد و با استفاده از سرم فیزیولوژی سو سپانسون میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه گردید. سپس بعد از فروبردن سوآپ استریل در سوسپانسیون میکروبی، اضافه محلول را با فشار دادن سوآپ به کنار لوله گرفته و سپس در سطح پلیت حاوی مولر هینتون آگار، ۳ بار در حالت زاویه ۶۰ درجه، از گونه های باکتریایی موردنظر کشت داده و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت های ۱۰۰-۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بطور جداگانه مستقیماً بر روی چاهک هایی که بر روی محیط کشت ایجاد شده بود، تلقیح شد. پلیتها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. پس ازآن قطر هاله عدم رشد اندزه گیری شد.

بررسی اثرات ضدبیوفیلمی: برای ارزیابی اثرات ضدبیوفیلمی نانونیوزومهای حاوی ناپروکسن و مقایسه آن با ناپروکسن آزاد، از روش رنگ سنجی میکروتیترپلیت با استفاده از کریستال ویوله در پلیت های ۹۶ خانه‌ای انجام شد. سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* در پلیت های ۹۶ خانه ای به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شدند. به دنبال آن، تمامی چاهک‌ها سه بار با سرم فیزیولوژی (PBS) شستشو داده شدند تا سویه‌های متصل نشده از کف چاهک ها شسته شوند. سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* سپس با مقادیر زیر حد مهارکنندگی (Sub-MIC) نانونیوزومهای حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد تیمار شدند. سپس کلیه چاهک ها مجدداً با PBS سه بار شسته و به مدت ۱۵ دقیقه با متانول ثابت شدند. پلیت های ۹۶ خانه‌ای به مدت ۳۰ دقیقه در هوا خشک شدند و به هر چاهک مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۰/۱ در صد کریستال ویوله اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. پس از شستشو با آب مقطر، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از اسید استیک ۳۳٪ به هر چاهک اضافه شد و میزان جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر میانگین جذب هر نمونه محاسبه و با میانگین مقادیر کنترل مقایسه شد. نمونه کنترل در این تست، سویه‌های تیمار نشده با نانونیوزوم حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد بودند (۲۷).

بررسی میزان بیان ژن بیوفیلم: به منظور بررسی میزان تاثیر نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن بر روی بیان ژن بیوفیلم *icaB* و مقایسه آن با ناپروکسن آزاد در سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، از روش quantitative Real Time PCR استفاده شد. ابتدا سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت زیرحدمهارکنندگی (SubMIC) نانونیوزوم های حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد تیمار شدند و به دنبال آن، استخراج RNA از سویه‌های تیمار شده با استفاده از کیت استخراج RNA (کیاژن، امریکا) بر طبق دستورالعمل انجام گرفت. در ادامه، سنتز cDNA با استفاده از کیت Quanti Tect Reverse Transcription kit (کیاژن، امریکا) انجام گرفت. مواد مورد استفاده در حجم ۲۰ میکرولیتر مسترمیکس شامل ۱ میکرولیتر از cDNA، 10 پیکومول از پرایمرهای رفت و برگشت، ۱۰ میکرولیتر از مسترمیکس حاوی سایبر گرین بود که در دستگاه Bioneer کره انجام گرفت برنامه دمایی مورد استفاده در qPCR شامل ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۱۵ ثانیه، ۱ دقیقه دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بود که در ۴۰ سیکل انجام شد. هم چنین ژن *16S rRNA* به عنوان ژن خانه دار (کنترل داخلی) مورد استفاده قرار گرفت. در انتها بیان نسبی ژن *icaB* توسط روش $\Delta\Delta C_T$ محاسبه گردید. توالی پرایمر های رفت و برگشت (Forward and reverse) ژن هدف *icaB* به صورت 5'-ATACCGGCGACTGGGTTTAT-3' رفت، و 5'-TTGCAAATCGTGGGTATGTGT-3' برگشت، بود. توالی پرایمرهای رفت و برگشت ژن مرجع *16S rRNA* به صورت 5'-CGTCTGCCCTATCAACTTTCG-3' رفت و 5'-CGTTTCTCAGGCTCCCTCT-3' برگشت است (۲۸).

آنالیز آماری: رسم نمودارها توسط نرم افزار آماری GraphPad Prism نسخه ۷ و آنالیزهای آماری توسط SPSS نسخه 23 انجام گرفت و از آزمون آماری آنالیز

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

واریانس یک طرفه جهت تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید و $p< ۰/۰۵$ معنادار درنظر گرفته شد.

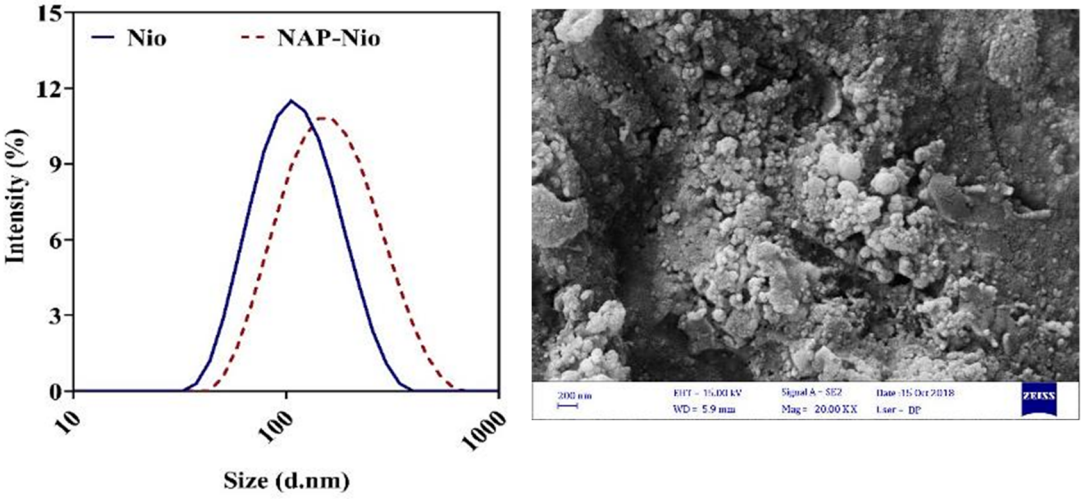
یافته‌ها

فرمولاسیون و سنتز نانونیوزوم های حاوی ناپروکسن و بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن: در این مطالعه، با استفاده از نسبت‌های مولی مختلف سورفکتانت، کلسترول و دارو، فرمولاسیون‌های مختلف نانونیوزوم حاوی ناپروکسن سنتز گردید (جدول ۱) که از میان فرمولاسیون‌های مختلف، فرمولاسیون F2 با میانگین اندازه ۱۲۵/۳ نانومتر و درصد محصور سازی ۶۶/۸۴ درصد به عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب گردید. اندازه‌گیری سایز نیوزوم بهینه سنتز شده توسط روش DLS انجام گرفت (شکل ۲). نتایج میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) نشان می‌دهد که نانونیوزوم‌های سنتز شده دارای ساختار کروی می‌باشند (شکل ۲).

برر سی الگوی آزاد سازی دارو: در این مطالعه، به منظور بررسی الگوی آزادسازی دارو از روش کیسه دیالیز بهره گرفته شد. در شکل ۳ الگوی آزادسازی ناپروکسن از نانونیوزوم و ناپروکسن آزاد در مدت زمان ۷۲ ساعت نشان داده شده است. به منظور شبیه سازی محیط آزادسازی به شرایط In vivo از محیط آزادسازی PBS برای فاز گیرنده استفاده شد. همانطور که در نمودار مشخص است آزاد سازی ناپروکسن از نانونیوزوم حاوی ناپروکسن آهسته رهش بوده، بطوریکه ناپروکسن در مدت زمان ۴ ساعت به ترتیب به میزان ۱۷/۷۱٪ و ۷۰/۲۱ درصد از نانونیوزوم و ناپروکسن آزاد، آزاد سازی

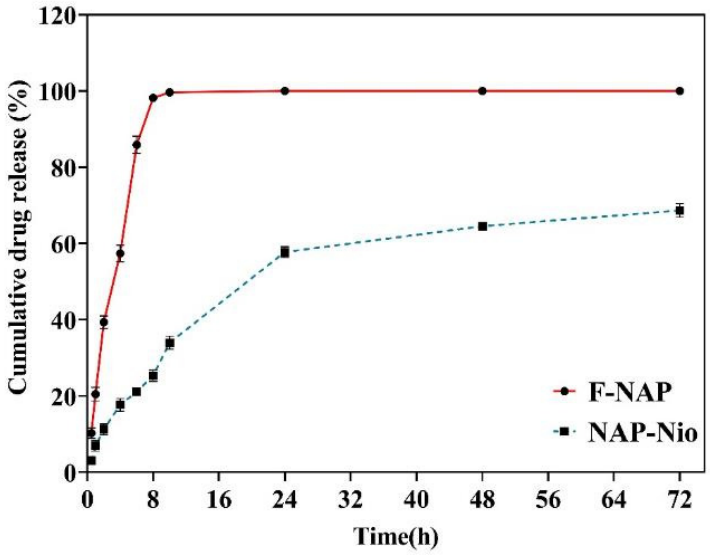
جدول ۱- فرمولاسیون های مختلف نانونیوزوم حاوی ناپروکسن و خصوصیات آنها.

Run	Levels of independent variables		Dependent variables		
	Lipid/Drug, mol ratio	Surfactant: Cholesterol, mol ratio	Average size (nm)	PDI	Entrapment Efficiency (EE) (%)
F1	30	1	197.2	0.342	75.66
F2	10	2	125.3	0.242	66.84
F3	30	2	250.4	0.274	70.93
F4	10	1	149.8	0.240	59.32
F5	10	0.5	220.5	0.292	35.42
F6	30	0.5	293.8	0.432	64.58



شکل ۲- بررسی خصوصیات مورفولوژی و اندازه نانونیوزوم های سنتز شده. A: تصویر میکروسکوپ الکترونی نگاره از نانونیوزوم های حاوی ناپروکسن، B: سایز نانونیوزوم های سنتز شده توسط روش DLS.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]



شکل ۳- الگوی آزادسازی ناپروکسن از نانونیوزوم بارگذاری شده با ناپروکسن و ناپروکسن آزاد. خط آبی: نانونیوزوم حاوی ناپروکسن، خط قرمز: ناپروکسن آزاد.

جدول ۲- الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های جداسازی شده.

شماره سویه	الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی	MRSA
S2, S6, S8, S9, S10	CIP, CEF, TET	+
S14, S19, S23, S25, S26	CIP, GEN, AMP	-
S30, S34, S39, S46, S49	AMI, CEF, AMP, TET	+

AMP: آمپی سیلین، GEN: جنتامایسین، TET: تتراسایکلین، CEF: سفوکسی سیتین، AMI: آمیکاسین، CIP: سیپروفلوکساسین

شده است. ناپروکسن آزاد در مدت زمان ۸ ساعت، ۱۰۰ در صد آزاد شده است در صورتیکه در مدت زمان ۷۲ ساعت تنها ۶۸/۶۷ درصد از دارو آزاد شده است.

جداسازی و پروفایل مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس: از میان ۱۰۰ نمونه بالینی با استفاده از روش‌های میکروب شناسی، تعداد ۱۵ نمونه *استافیلوکوکوس اورئوس* جداسازی و شناسایی گردید. نتایج تشخیص میکروبی نشان داد که سویه های جداسازی شده گرم مثبت، کاتالاز کثبت، کواگولاز مثبت، DNase مثبت، مانیتول مثبت بودند. نتایج تست بررسی پروفایل مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که از میان ۱۵ سویه، ۱۰ سویه مقاوم به متی سیلین (MRSA) بودند (جدول ۲). هم چنین از میان سویه‌های MRSA، بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی به آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین (۶۶٪) و سفوکسی تین (۶۶٪) مشاهده شد.

بررسی اثرات ضدمیکروبی

۱- روش میکرودایلوشن: در این مطالعه، به منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی نانونیوزوم های حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد از روش میکرودایلوشن به منظور تعیین کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) استفاده شد. در این، روش سویه‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس* تحت غلظت‌های ۳/۱۲۵ تا ۱۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن نسبت به ناپروکسن آزاد دارای اثرات ضدمیکروبی معناداری بودند، بطوریکه میزان MIC بین ۲ تا ۴ برابر کاهش یافته بود و نانونیوزوم حاوی ناپروکسن در کمترین غلظت ۶/۲۵

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

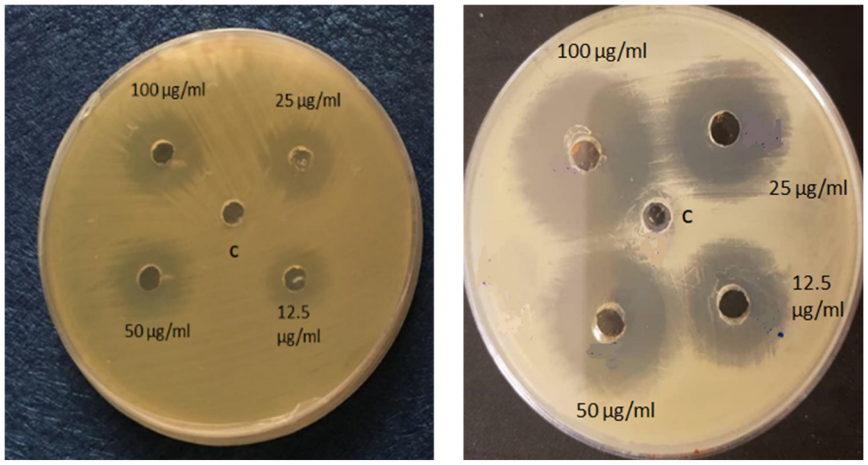
میکروگرم در میلی لیتر بر روی ایزوله‌ها تاثیرگذار بودند (جدول ۲).

۲- روش انتشار چاهک: نتایج مربوط به روش انتشار چاهک نشان داد که نانیوزوم حاوی ناپروکسن در مقایسه با ناپروکسن آزاد دارای قدرت میکروب کشی معناداریتری بوده بطوریکه طول قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت نانونیوزوم افزایش می یابد. تغییرات میانگین هاله عدم رشد در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* در غلظت‌های مورد استفاده در شکل ۴ و جدول ۳ نشان داده شده است.

بررسی اثرات ضدبیوفیلمی: به منظور بررسی اثرات ضدبیوفیلمی نانونیوزوم های حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد، از روش میکروتیترپلیت استفاده شد، بطوریکه سویه‌های تولید کننده بیوفیلم *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت زیرحدمهارکنندگی تیمار شدند. نتایج نشان داد که پس از تیمار سویه‌های *استافیلوکوکوس*

جدول ۳- بررسی اثرات ضدمیکروبی نانونیوزوم حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد.

ردیف	شماره سویه	MIC ناپروکسن آزاد (میکروگرم در میلی لیتر)	MIC نانونیوزوم حاوی ناپروکسن (میکروگرم در میلی لیتر)
۱	S2, S6, S8, S9	۵۰	۱۲/۵
۲	S10, S14, S19, S23, S25	۵۰	۶/۲۵
۳	S26, S30, S34	۲۵	۳/۱۲۵
۴	S39, S46, S49	۵۰	۳/۱۲۵



a b

شکل ۴- بررسی اثرات ضدمیکروبی ناپروکسن (a) و نانونیوزوم حاوی ناپروکسن (b). همانطور که مشاهده می شود با افزایش غلظت، قطر هاله عدم رشد نیز بیشتر می شود بطوریکه قطر هاله های عدم رشد نانونیوزوم حاوی ناپروکسن به مراتب بیشتر از ناپروکسن است.

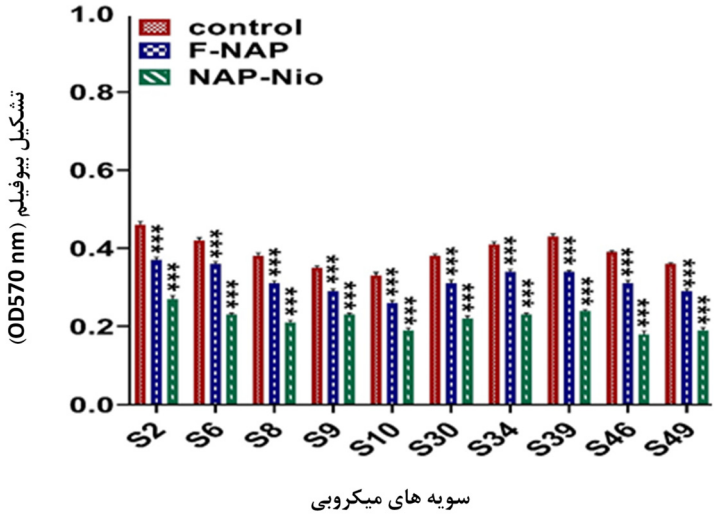
جدول ۴- بررسی اثرات ضدمیکروبی به روش انتشار چاهک.

شماره سویه	ناپروکسن (قطر به میلی متر)				نانونیوزوم حاوی ناپروکسن (قطر به میلی متر)			
	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰
S39, S14, S8, S9	۴ ± ۰/۵	۹ ± ۰/۵	۱۱ ± ۰/۵	۱۳ ± ۰/۵	۹±۰,۰	۱۳ ± ۰/۵	۱۵ ± ۰/۵	۲۲ ± ۰/۵
S10, S6, S46, S23, S34	۵ ± ۰/۵	۸ ± ۱,۰	۱۰ ± ۱,۰	۱۲ ± ۱,۰	۸±۰,۵	۱۴ ± ۱,۰	۱۷ ± ۱,۰	۲۵ ± ۱,۰
S26, S30, S25	۵ ± ۱,۰	۷ ± ۱,۰	۹ ± ۱,۰	۱۱ ± ۱,۰	۷±۰,۵	۱۵ ± ۱,۰	۱۹ ± ۱,۰	۲۴ ± ۱,۰
S2, S19, S49	۷ ± ۱,۰	۱۰ ± ۱,۰	۱۱ ± ۱,۰	۱۴ ± ۱,۰	۶ ± ۱,۰	۱۱ ± ۰/۵	۱۶ ± ۰/۵	۲۱ ± ۰/۵

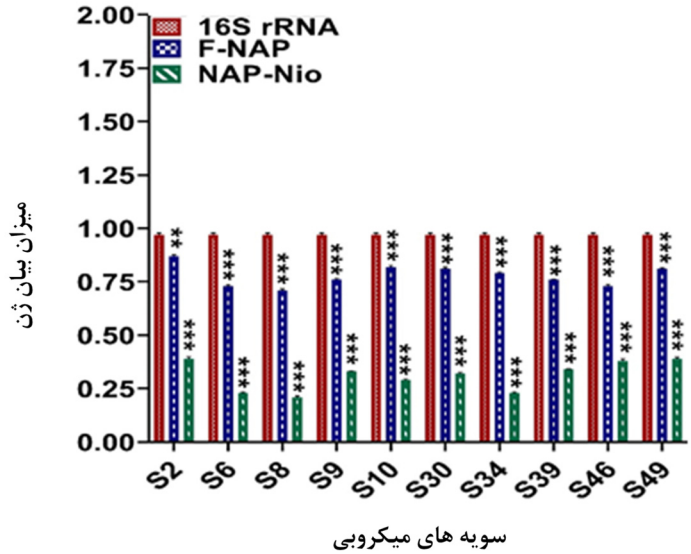
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

اورئوس با نانونیوزوم حاوی ناپروکسن میزان جذب در طول موج ۵۷۰ نانومتر نسبت به گروه تیمار شده با ناپروکسن آزاد به شدت کاهش یافته (۴-۲ برابر) و ارتباط معناداری بین کاهش جذب نوری بین سویه‌های تیمار شده با نانونیوزوم حاوی ناپروکسن و نمونه‌های کنترل وجود داشت ($p<۰/۰۵$) که نشان دهنده اثرات ضدبیوفیلمی معناداری نانونیوزوم حاوی ناپروکسن نسبت به ناپروکسن آزاد بود (نمودار ۱).

بررسی بیان ژن بیوفیلم: به منظور بررسی تاثیر نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد بر روی بیان ژن بیوفیلم *icaB* در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* از روش Real-Time PCR استفاده شد. همچنین پس از تیمار سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* با غلظت زیر حدمهارکنندگی نانونیوزوم حاوی ناپروکسن نشان داد که میزان بیان ژن *icaB* نسبت به ژن مرجع *16S rRNA* بطور معناداری کاهش یافته است



نمودار ۱- اثرات ضدبیوفیلمی نانونیوزوم حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد. همانطور که مشاهده می شود اثرات ضدبیوفیلمی نانونیوزوم های حاوی ناپروکسن (ستون سبز) معنادارتر نسبت به ناپروکسن آزاد (ستون آبی) در مقایسه با نمونه های قبل از تیمار (کنترل، ستون قرمز) می باشد. *** $p<۰/۰۰۱$: (n=3).



نمودار ۲- بررسی تغییرات بیان ژن بیوفیلم *icaB* در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس تیمار شده* با نانونیوزوم حاوی ناپروکسن (ستون آبی) و ناپروکسن آزاد (ستون سبز). (**: $p<۰/۰۱$ ، *** $p<۰/۰۰۱$: (n=3).

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

($p<0.05$) (نمودار ۲).

بحث

مقاومت دارویی باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌های رایج یکی از معضلات درمانی می‌باشد، بطوریکه مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها تاثیر بسزایی در شیوع مقاومت آنتی بیوتیکی دارد. درمان آنتی بیوتیکی باکتری های مقاوم به چند دارو در سالهای اخیر با چالش مواجه شده است و گزینه‌های درمانی را محدود نموده است (۲۹). یکی از باکتری های فرصت طلب بیمارستانی که نسبت به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده است، *استافیلوکوکوس اورئوس* می باشد، بطوریکه سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین (MRSA) تا میزان ۷۹/۶٪ گزارش شده است و یکی از مکانیسم‌های مقاومت دارویی این باکتری، تشکیل بیوفیلم می‌باشد که درمان را با مشکل مواجه کرده است (۳۰).

یکی از راهکارهای درمانی جهت باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک استفاده از سیستم‌های دارورسانی می‌باشد بطوریکه سیستم های نانونیوزوم جهت دارورسانی ترکیبات ضدمیکروبی یکی از راهکارهای امیدبخش برای افزایش اثرات داروها می‌باشد (۳۱). در سالهای اخیر استفاده از ترکیبات دارویی غیر از آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مورد توجه محققان قرار گرفته است که یکی از این انواع ترکیبات، ترکیبات ضدالتهابی می‌باشد که مطالعات نشان داده است دارای اثرات ضدمیکروبی و ضدبیوفیلمی می‌باشند (۳۲). در این مطالعه، ناپروکسن به عنوان یک ترکیب دارویی در ساختار نانونیوزوم انکپسوله گردید و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن شامل اندازه، مورفولوژی، درصد محصورسازی دارو و رهایش دارو مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که نانونیوزوم‌های سنتز شده در فرمولا سیون بهینه دارای شکل کروی، اندازه میانگین ۱۲۵/۳ نانومتر با درصد محصورسازی ۶۶/۸۴ درصد بود. هم چنین نتایج رهایش دارو نشان داد که ناپروکسن در حالت فرموله شده در نانونیوزوم به مراتب دارای الگوی رهایش آهسته‌تر نسبت به ناپروکسن آزاد می باشد که از ویژگی‌های مناسب یک سیستم دارورسانی می باشد. مطالعات مختلفی در زمینه فرمولاسیون ترکیبات ضدمیکروبی در نانونیوزوم انجام گرفته است. Nidhi Shah و همکارانش ۵ فرمولا سیون نانونیوزوم حاوی ناپروکسن را سنتز و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد که فرمولاسیون نوع دوم (F2) متشکل از توئین ۲۰، توئین ۸۰ و کلسترول دارای درصد محصورسازی ۷۴/۵۹ درصد و اندازه میانگین ۳/۸۱ میکرومتر بود. هم چنین نتایج این مطالعه نشان داد که میزان رهایش دارو در مدت زمان ۴ ساعت ۲۷/۶۹ در صد و در مدت زمان ۸ ساعت ۵۷/۶۸ در صد بود بطوریکه داروی آزاد در مدت زمان ۸ ساعت ۱۰۰ درصد آزاد شده بود (۳۳). نتایج این مطالعه از نظر آهسته رهش بودن ناپروکسن در ساختار نانونیوزوم مطابق با نتایج مطالعه ما بوده است. آهسته رهش بودن یکی از خصوصیات مناسب جهت اهداف دارویی می باشد، بطوریکه هم پایداری دارو حفظ می‌شود و در ساختار نانونیوزوم ساختار دارو از نظر تجزیه فیزیکی محافظت می‌شود. Shahira F El-Menshawe و همکارانش داروی ضدالتهابی meloxicam را در نانونیوزوم با استفاده از روش هیدراسیون لایه نازک با استفاده از اسپن ۶۰ و کلسترول انکپسوله کردند و خصوصیات آن را بررسی نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان محصورسازی meloxicam در نانونیوزوم ۵۵ درصد و دارای اندازه میانگین ۱۸۷/۳ نانومتر بود (۳۴). Mohamed Shafik El-Ridy و همکارانش داروی ضدالتهابی غیرا ستروئیدی Lornoxicam را در ساختار نانونیوزوم انکپسوله نمودند و ساختار مورفولوژی آن با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره بررسی شد. نتایج نشان داد که نانونیوزوم سنتز شده کروی و دارای اندازه میانگین ۲۹۵ تا ۱۲۹۸ نانومتر بود. هم چنین نتایج این مطالعه نشان داد که میزان آزادسازی این دارو در حالت فرموله شده با نانونیوزوم به مراتب کمتر از داروی آزاد بود. تمامی نتایج مطالعات با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد که نشان دهنده تاثیر نیوزوم در میزان رهایش آهسته دارو دارد (۳۵).

در بخش دیگر از مطالعه، اثرات ضدمیکروبی نانونیوزوم

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

حاوی ناپروکسن و ناپروکسن آزاد با روش میکرودایلوشن مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج تست ضدمیکروبی نشان داد که نانونیوزوم حاوی ناپروکسن در مقایسه با ناپروکسن آزاد دارای اثرات ضدمیکروبی معنادارتری نسبت به ناپروکسن آزاد است، بطوریکه میزان MIC را بین ۲ تا ۴ برابر کاهش میدهد. یکی از مکانیسم‌های ضدمیکروبی نانونیوزوم حاوی ناپروکسن فیوژ شدن نانونیوزوم با غشای سلول باکتری می باشد که میتواند بطور هدفمند دارو را در داخل سیتوپلاسیم سلول آزاد کند و باعث مرگ سلول باکتری شود (۳۶). هم چنین مطالعات نشان می‌دهد که داروهای ضدالتهابی مانند ناپروکسن بر روی باکتری‌های گرم مثبت تاثیر بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی دارد و این به دلیل وجود غشای خارجی و لیپوپلی ساکارید در باکتری‌های گرم منفی می باشد که آزادسازی داروهای هیدروفیل را کاهش می‌دهد (۳۷).

هدف دیگر این مطالعه بررسی اثرات ضدبیوفیلمی نانونیوزوم حاوی ناپروکسن بر روی ایزوله‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین و هم چنین تاثیر آن بر بیان ژن بیوفیلم بود. نتایج این مطالعه نشان داد که نانونیوزوم حاوی ناپروکسن در مقایسه با ناپروکسن آزاد دارای اثرات ضدبیوفیلمی معنادارتری نسبت به ناپروکسن آزاد است و می تواند بیان ژن بیوفیلم را بطورمعناداری کاهش دهد. یکی از دلایل اثرات ضدبیوفیلمی نانونیوزوم حاوی ناپروکسن نفوذ بیشتر نانونیوزوم حاوی ناپروکسن به درون ساختار بیوفیلم می‌باشد که میتواند باعث مرگ باکتری ها، کاهش تعداد باکتری‌ها و تبدیل بیوفیلم به سلول‌های پلانکتونی شود (۳۸). Silva و همکارانش نشان دادند که داروهای ضدالتهابی می‌توانند راحت‌تر به ساختار بیوفیلم نفوذ کنند و برهمکنش مستقیم با سلول های باکتریایی داشته باشند (۳۹). El-Mowafy و همکارانش اثر مهاری داروهای ضدالتهابی را بر روی فاکتورهای ویرولانس مانند تشکیل بیوفیلم، بیان ژن‌های بیوفیلم و پروتئاز را بررسی نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد که مهار فاکتورهای ویرولانس در باکتری سودوموناس آئروژینوزا مانند تشکیل بیوفیلم توسط داروی ضدالتهابی آسپیرین را نشان دادند. هم چنین نتایج نشان داد که این دارو می‌تواند بیان ژنهای پروتئاز، توکسین ها و تشکیل بیوفیلم را کاهش دهد (۴۰). Cramton و همکارانش نشان دادند که برخی از داروهای ضدالتهابی مانند دیکلوفناک و ملوکسی کام بیان ژن بیوفیلم *icaA* را در سویه های *استافیلوکوکوس اورئوس* کاهش دهد. این ژن متعلق به اپران icaADBC می باشد که ترکیبات اصلی تشکیل دهنده ماتریکس خارج سلولی بیوفیلم را کد می‌کند (۴۱).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن سنتز و تعیین ماهیت شدند و به دنبال آن اثرات ضدمیکروبی و ضدبیوفیلمی آن بر روی سویه‌های مقاوم به متی سیلین *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد مطالعه قرار گرفتند. در این مطالعه، انکپسوله کردن ناپروکین در نانونیوزوم باعث آهسته رهش شدن این دارو شد که یک ویژگی مناسب جهت اهداف طراحی نانودارو می باشد. هم چنین، نتایج این مطالعه نشان داد که نانونیوزوم حاوی ناپروکسن در مقایسه با ناپروکسن آزاد اثرات ضدمیکروبی و ضدبیوفیلمی را به نسبت ۲ تا ۴ برابر نسبت به ناپروکسن آزاد افزایش داد. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که نانونیوزوم ها می‌توانند به عنوان یک سیستم دارورسانی مناسب برای داروی ناپروکسن در نظر گرفته شود و با مطالعات بیشتر می‌توان از نانونیوزوم‌های حاوی ناپروکسن جهت اهداف دارویی و ضدمیکروبی مورد استفاده قرار بگیرد.

References

1. Mirzaie A, Noorbazargan H, Paseban K, Sadat Shandiz SA. Frequency and analysis of gene expression of norA and norB efflux pump in clinical isolates of Staphylococcus aureus using ethidium bromide and Real Time PCR. Med J Tabriz Uni Med Sci. 2019: 6: 64-73.

2. Brown NM, Brown EM. Treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): updated guidelines from the UK. J Antimicrob Chemother. 2021;76(6):1377-1378.

3. Verma R, Verma SK, Rakesh KP, Girish YR,

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

Ashrafizadeh M, Sharath Kumar KS, Rangappa KS. Pyrazole-based analogs as potential antibacterial agents against methicillin-resistance Staphylococcus aureus (MRSA) and its SAR elucidation. Eur J Med Chem. 2021; 212:113134.

4. Dad V, Ahmadrajabi R, Esfahani S, Saffari F. Comparative study of Staphylococcus aureus from burn patients and healthcare workers in a burn center, Yazd, Iran. Wien Med Wochenschr. 2021 Aug 2. doi: 10.1007/s10354-021-00863-5.

5. Kaneko H, Nakaminami H, Ozawa K, Wajima T, Noguchi N. In vitro anti-biofilm effect of anti-methicillin-resistant Staphylococcus aureus (anti-MRSA) agents against the USA300 clone. J Glob Antimicrob Resist. 2021; 24:63-71.

6. Ronco T. Efficacy of a novel antimicrobial hydrogel for eradication of Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus and Cutibacterium acnes from preformed biofilm and treatment performance in an in vivo MRSA wound model. JAC Antimicrob Resist. 2021;3(3):dlab108.

7. Wang B, Yao Y, Wei P, Song C, Wan S, Yang S, Zhu GM, Liu HM. Housefly Phormicin inhibits Staphylococcus aureus and MRSA by disrupting biofilm formation and altering gene expression in vitro and in vivo. Int J Biol Macromol. 2021; 167:1424-1434.

8. Liu T, Luo J, Bi G, Du Z, Kong J, Chen Y. Antibacterial synergy between linezolid and baicalein against methicillin-resistant Staphylococcus aureus biofilm in vivo. Microb Pathog. 2020; 147:104411.

9. Qiao J, Zheng L, Lu Z, Meng F, Bie X. Research on the biofilm formation of Staphylococcus aureus after cold stress. Microorganisms. 2021; 9(7):1534.

10. Hamdi SMM, Kalhor N, Mirzaie M. Anti-biofilm effects of zinc oxide nanoparticles synthesized by leaf extract of Typha latifolia on biofilm gene expression in multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae strains. J Rafsanjan Uni Med Sci. 2020: 20: 3-22.

11. Zimmermann P, Curtis N. Antimicrobial effects of antipyretics. Antimicrob. Agents Chemother. 2017, 61, e02268-16.

12. Chan EWL, Yee ZY, Raja I, Yap JKY. Synergistic effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on antibacterial activity of cefuroxime and chloramphenicol against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Glob Antimicrob Resist. 2017, 10: 70–74.

13. Abdul-Hussein, Z.R.; Zainab, R. Antibacterial effect of non-steroidal. Available online: https://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&aId= 98815 (accessed on 4 January 2019).

14. Umaru, T.; Nwamba, C.O.; Kolo, I.; Nwodo, U.U. Antimicrobial activity of non-steroidal anti-inflammatory drugs with respect to immunological response: Diclofenac sodium as a case study. Afr J Biotechnol. 2009, 8, 7332–7339.

15. Shirin H, Kancherla S, Kancherla K, Holt PR, Sordillo EM, Moss SF, Weinstein IB. Non-steroidal anti-inflammatory drugs have bacteriostatic and bactericidal activity against Helicobacter pylori. J Gastroenterol Hepatol. 2006, 21, 1388–1393.

16. Hassan Noorbazargan, Sobhan Amintehrani, Aghigh Dolatabadi, Ainaz Mashayekhi, Nazanin Khayam, Pooria Moulavi, Mohammad Naghizadeh, Amir Mirzaie, Mahsa Kavousi. Anti-cancer & anti-metastasis properties of bioorganic-capped silver nanoparticles fabricated from Juniperus chinensis extract against lung cancer cells. AMB Express. 2021. 11: 1-14.

17. Mehrabi M, Faezi Ghasemi M, Rasti B, Falahati M, Mirzaie A. Mesoporous iron oxide nanoparticle synthesis: Study of its biological effects on lymphocytes and chronic myelogenous leukemia cells K562. Applied Biology. 34: 148-162.

18. Moghtaderi M, Mirzaie A, Zabet N, Moammeri A, Mansoori-Kermani A, Akbarzadeh I, Eshrati Yeganeh F, Chitgarzadeh A, Bagheri Kashtali A, Ren Q. Enhanced antibacterial activity of Echinacea angustifolia extract against multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae through Niosome Encapsulation. Nanomaterials. 2021. 11: 1573.

19. Hedayati Ch M, Targhi AA, Shamsi F, Heidari F, Moghadam ZS, Mirzaie A. Niosome-encapsulated tobramycin reduced antibiotic resistance and enhanced antibacterial activity against multidrug-resistant clinical strains of Pseudomonas aeruginosa. J Biomed Mat Res Part A. 2021. 109: 966-980.

20. Dabaghian Amiri A, Mirzaie M, Ali Asgari E, Mahmoudzadeh A. Preparation of niosome loaded Artemisia chamamelifolia extract: antibacterial and anti-cancer activities and apoptosis gene expression analysis in breast cancer cell line (MCF-7). Feyz. 2021. 25: 839-849.

21. Fatemeh Heidari, Iman Akbarzadeh, Dariush Nourouzian, Amir Mirzaie, Haleh Bakhshandeh. Optimization and characterization of tannic acid loaded niosomes for enhanced antibacterial and anti-biofilm activities. Adv Powder Technol. 2021. 31: 4768-4781.

22. Mirzaie A, Peirovi N, Akbarzadeh I. Preparation and optimization of ciprofloxacin encapsulated niosomes: A new approach for enhanced antibacterial activity, biofilm inhibition and reduced antibiotic resistance. Bioorgan Chem. 2021. 103: 104231.

23. Khosravi M, Mirzaie A, Bagheri Kashtali A, Noorbazargan H. Antibacterial, anti-efflux, anti-biofilm, anti-slime (exopolysaccharide) production and urease inhibitory efficacies of novel synthesized gold nanoparticles coated Anthemis atropatana extract. 2020. 202: 2105-2115.

24. Ezati Sh, Mirzaie A, Zandi M. Evaluation of anti-efflux activity of Anthemis atropatana extract against ciprofloxacin resistant Staphylococcus aureus

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]

isolates. Journal of Medicinal Plants. 2018. 17: 122-134.

25. Hsueh PR, Ko WC, Wu JJ, Lu JJ, Wang FD, Wu HY, et al. Consensus statement on the adherence to clinical and laboratory standards institute (CLSI) antimicrobial susceptibility testing guidelines (CLSI-2010 and CLSI-2010-update) for Enterobacteriaceae in clinical microbiology laboratories in Taiwan. J Micro Immun Infect. 2010;43(5): 452-5.

26. Behdad R, Pargol M, Mirzaie A, Zare Karizi S, Noorbazargan H, Akbarzadeh I. Efflux pump inhibitory activity of biologically synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clinical isolates. J Basic Microb. 2020: 60: 494-507.

27. Sabahi M, Hamdi SMM, Mirzaie A. Anti-biofilm activity of synthesized silver nanoparticles using Asphodelus dendroides extract against antibiotic resistant and biofilm forming Klebsiella pneumoniae clinical. J Rafsanjan Uni Med Sci. 2020. 18: 1233-1252.

28. Salman Sahab Atshan. Prevalence of adhesion and regulation of biofilm-related genes in different clones of Staphylococcus aureus. J Biomed Biotechnol. 2012; 2012: 976972.

29. Bongiorno D, Lazzaro LM, Stefani S, Campanile F. Share in vitro activity of Dalbavancin against refractory multidrug-resistant (MDR) Staphylococcus aureus isolates. Antibiotics (Basel). 2020;9(12):865.

30. Kaneko H, Nakaminami H, Ozawa K, Wajima T, Noguchi N. Share In vitro anti-biofilm effect of anti-methicillin-resistant Staphylococcus aureus (anti-MRSA) agents against the USA300 clone. J Glob Antimicrob Resist. 2021; 24:63-71.

31. Abo El-Ela FI, Hussein KH, El-Banna HA, Gamal A, Rouby S, Menshawy AMS, et al. Treatment of brucellosis in guinea pigs via a combination of engineered novel pH-responsive curcumin niosome hydrogel and doxycycline-loaded chitosan-sodium alginate nanoparticles: an in vitro and in vivo study. AAPS Pharm Sci Tech. 2020;21(8):326.

32. Leão C, Borges A, Simões M. NSAIDs as a drug repurposing strategy for biofilm control. Antibiotics (Basel). 2020; 9(9):591

33. Shah N, Gupta MK. Characterization, optimization and formulation of niosome containing naproxen. J Biomed Pharma Res. 2016. 5: 1-6.

34. El-Menshawe SF, Hussein AK. Formulation and evaluation of meloxicam niosomes as vesicular carriers for enhanced skin delivery. Pharm Dev Technol. 2013;18(4):779-86.

35. El-Ridy MS, Yehia SA, Mohsen AM, El-Awdan SA, Darwish AB. Formulation of niosomal gel for enhanced transdermal Lornoxicam delivery: in-vitro and in-vivo evaluation. Curr Drug Deliv. 2018;15(1):122-133.

36. Abdelaziz AA. Optimization of niosomes for enhanced antibacterial activity and reduced bacterial resistance: in vitro and in vivo evaluation. Expert Opin Drug Deliv. 2015;12(2):163-80.

37. Abbas HA, Gad AI. Eradication of biofilms formed by bacteria isolated from diabetic foot infections by potential anti-biofilm agents alone and in combination with ciprofloxacin. Afr J Microbiol Res. 2014, 8, 3882–3892.

38. Kashef MT. The antimicrobial activity of ciprofloxacin-loaded niosomes against ciprofloxacin-resistant and biofilm-forming Staphylococcus aureus. Infect Drug Resist. 2020; 13: 1619–1629.

39. Lima-E-Silva A, Silva PM. Non-antibiotic compounds: The activity of the NSAID diclofenac on bacteria—A review. Int J Curr Microbiol Appl Sci. 2018, 7, 340–351.

40. El-Mowafy SA, El Galil KH, El-Messery SM, Shaaban MI. Aspirin is an efficient inhibitor of quorum sensing, virulence and toxins in Pseudomonas aeruginosa. Microb Pathog. 2014, 74, 25–32.

41. Cramton SE, Gerke C, Schnell, NF, Nichols, W.W, Goötz, F. The Intercellular adhesion (ica) locus is present in Staphylococcus aureus and is required for biofilm formation. Infect Immun. 1999, 67, 5427–5433.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-10-31]