



Design and Optimization of a Niosomal System with Simultaneous Loading of Gemcitabine and Curcumin Drugs for Applications in Cancer Chemotherapy

Amin Rahiminejad ¹, Mojgan Heydari ^{2*}, Fariba Tajabadi ²

¹ PhD Student, Department of Nano Technology and Advanced Materials, Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran.

² Associate Professor, Department of Nano Technology and Advanced Materials, Materials and Energy Research Center, Karaj, Iran.

*Corresponding Author's Email: M.Heydari@merc.ac.ir (Mojgan Heydari)

Paper History:

Received: 2025-02-18

Revised: 2025-03-03

Accepted: 2025-03-18

Keywords:

Nano Niosome,

Curcumin,

Gemcitabine,

Co-delivery,

Drug Delivery.

Abstract Pancreatic cancer exhibits a high mortality rate globally, and numerous research efforts have been directed toward treating this disease. Gemcitabine is considered one of the most efficacious pharmacological agents for the treatment of this disease. However, this drug is characterized by its short half-life and development of resistance over time. To enhance the efficacy of this drug, it is imperative to utilize a carrier and concurrently administer another drug, Curcumin, to augment its effect. The implementation of advanced drug delivery systems can effectively address this challenge. For this purpose, a niosomal vesicle system was employed to simultaneously encapsulate both drugs. Various assays were conducted to design optimal and engineered systems. The results demonstrated that the optimal lipid-to-drug ratio was 20. Furthermore, the optimal sonication time was determined to be approximately 24 minutes, yielding niosomes with a diameter of 241 nm, suitable for passing through the intercellular pores of cancer cells. FESEM images also confirmed the semi-sphericity and formation of vesicles. Through optimization of the effective parameters in the synthesis process, the encapsulation efficiency for Curcumin reached 93%, while that for Gemcitabine reached 65%. The drug release rate after 48 h of co-encapsulation was 38% for Gemcitabine and 13.5% for Curcumin. The results of this study indicate that the niosomal drug delivery system with simultaneous loading of Gemcitabine and Curcumin is suitable for use in cancer chemotherapy.



<https://doi.org/10.30501/jamt.2025.506719.1320>

URL: https://www.jamt.ir/article_217650.html

1. INTRODUCTION

Pancreatic cancer arises when cells in the pancreas undergo uncontrolled proliferation, resulting in the formation of a neoplastic mass with the potential to metastasize to other anatomical sites. Nanotechnology has been developed to fight and defeat cancer (Kassem et al., 2017). One method that has garnered significant attention in recent years is drug delivery to tumors by encapsulating the drug in a biocompatible carrier and delivering it to the site of the cancerous tumor (Kheiri, 2014). Nanoparticles utilized as drug carriers present a novel approach to drug delivery for cancer cells by penetrating the capillaries of the cancer mass, which exhibit porosities ranging from 100 to 1000 nm. This methodology facilitates the delivery of a high concentration of the therapeutic agent specifically to neoplastic cells while minimizing its deleterious effects on healthy tissues. One type of nanoparticles used for targeted drug delivery is niosomal vesicles. Niosomes are biocompatible spherical systems composed of non-ionic surfactants and, due to their nature, can entrap hydrophilic and hydrophobic drugs. They can also entrap various types of drugs, hormones, genes, proteins, peptides, and vaccines. Gemcitabine (2,2-difluorodeoxycytidine) is a nucleoside analog that is considered the primary treatment modality for pancreatic cancer (Yang et al., 2018). This pharmaceutical agent has

demonstrated antineoplastic efficacy in treating breast, colon, and bladder malignancies (Parsian et al., 2016). Low-molecular-weight Gemcitabine is a hydrophilic drug with a short plasma half-life that cannot cross the cell membrane through an active diffusion mechanism due to its hydrophilic nature. Therefore, it must be used in clinical applications by binding to an agent or being loaded in a carrier to protect it from plasma degradation and overcome drug resistance, thereby increasing its anticancer efficacy (Khouri et al., 2007; Parsian et al., 2016). In pancreatic cancer, resistance to Gemcitabine increases over time. Thus, an agent that can enhance the efficacy of Gemcitabine and overcome chemoresistance in pancreatic cancer treatment is needed. Evidence suggests that Curcumin can solve this problem (Mathew & Hsu, 2018). Curcumin (difluoromethane) is an herbal medicine and the main ingredient extracted from the rhizome (underground stem oil) of turmeric, accounting for 77% of the Curcuminoids in turmeric (Mathew & Hsu, 2018). Curcumin is a hydrophobic polyphenolic compound that has demonstrated high efficacy against many cancer cells, including breast, prostate, bone, lung, gastrointestinal, and especially pancreatic cancer (Bisht et al., 2007). Due to its highly hydrophobic nature, Curcumin is unable to reach the target cell on its own. In fact, due to its short lifespan in serum, it does not have time to activate its mechanism of action. Therefore, a

Please cite this article as: Rahiminejad, A., Heydari, M. & Tajabadi, F. (2025). Design and Optimization of a Niosomal System with Simultaneous Loading of Gemcitabine and Curcumin Drugs for Applications in Cancer Chemotherapy. *Journal of Advanced Materials and Technologies*, Vol. 13, No. 4, 57-72. [In Persian]. <https://doi.org/10.30501/jamt.2025.506719.1320>.

2783-0829/© 2025 The Author(s). Published by MERC.

This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode>)



carrier is needed to protect Curcumin from existing metabolites, enhance its hydrophilicity, facilitate its transport, and deliver it to the targeted cancer cells.

The results showed that Curcumin enhanced the antitumor effects of Gemcitabine in pancreatic cancer cells (Mathew & Hsu, 2018). Consequently, the combination therapy of Gemcitabine and Curcumin is not only safe but also exhibits a high response rate in the treatment of advanced pancreatic cancer. Notably, Curcumin increases the median survival of patients with Gemcitabine-resistant pancreatic cancer (Ali et al., 2010; Pastorelli et al., 2018). The combination of these two drugs reduces tumor growth and exhibits significant anti-inflammatory effects, proving to be much more effective than either drug alone. Therefore, we aimed to utilize the bilayer capability of the niosomes and the possibility of simultaneously loading two drugs into them to encapsulate Gemcitabine and Curcumin together, designing an engineered system.

2. MATERIALS AND METHODS

To prepare niosomes in this study, Span 60, Tween 61, and cholesterol were used in a ratio of 0.9:0.1:1, respectively (Hood et al., 2007).

First, the niosome components, including surfactants and cholesterol, were weighed in a 1:1 ratio, added separately to chloroform solvent with a lipid concentration of 0.02 M, and placed on a magnetic stirrer for 30 minutes. All samples were then combined. To remove the solvent, a rotary evaporator was used for 40-60 minutes at 150 rpm and 65 °C. A quantity of phosphate buffered saline was added to this container containing the lipid bilayer, and the concentration reached to 0.01 M. To homogenize the niosome particles, the sample was placed in a bath sonicator (CODYSON Digital Ultrasonic Cleaner, CD-4820, China) tank at 30 °C for 24 min, with a power of 170 Watts and frequency of 35 KHz (Hood et al., 2007). Preparation of drug-loaded niosomes is not significantly different from that of drug-free niosomes. The hydrophobic drug was dissolved in the corresponding solvent and added to the niosomes during the pre-solvent evaporation step, where the solvent was removed using a rotary evaporator. The hydrophilic drug was added to the lipid content of the niosomes during the water-coating step (Sharma et al., 2015). The lipid-to-drug (L/D) ratio was set to 20, and 3.4 mg of curcumin drug was dissolved in ethanol and added to the niosomes in chloroform. Then, 1.3 mg of gemcitabine drug was dissolved in ethanol for 24 hours (Yang et al., 2018), added once in the lipid bilayer formation step, and again dissolved in phosphate-buffered saline before being added during the water-coating step (Xu et al., 2014).

3. RESULTS AND DISCUSSION

As shown in Figure 1, the average particle size of empty niosomes was 296.93 nm, while that of drug-loaded niosomes was 315.02 nm. Of note, the Polydispersity Index (PDI) was 0.2 in the first case and 0.3 in the second case. A PDI value of approximately 0.2 indicates a narrow particle size distribution curve (Tavano et al., 2013). The size of the drug-loaded particles was slightly larger than that of the drug-free niosomes, likely due to the increase in the volume of the lipid bilayer in the presence of the drug.

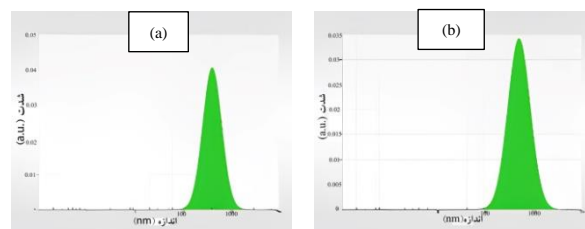


Figure 1. DLS images of empty niosomes (left image) and drug loaded niosomes (right image).

The FESEM (Seron Technology, AIS-2100, Korea) images of the morphology of the niosomes are shown in Figure 2. The images showed that the prepared niosomes were semi-spherical. Performing this test requires some precautions, such as placing the sample in a freeze dryer (Alpha 1-2 LD Plus, Martin-Christ, Germany). Therefore, it is natural for the particles to be positioned next to each other with a much smaller distance when the solvent is removed, resulting in a powder form. The average particle size was calculated using ImageJ software as 115.49 nm in the right image and 186.25 nm in the left image. The difference between these values and the average size obtained from Dynamic Light Scattering (DLS) (Zetasizer Nano ZS, model 3000HAs, Malvern, UK) test was due to elimination of the aqueous environment. The particles in the aqueous environment become somewhat larger due to water coverage. Given that same conditions exist in the body, the sizes obtained from the DLS test should be considered more reliable.

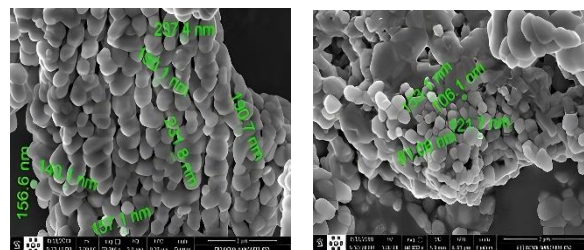


Figure 2. Morphological images from FESEM. Niosomes without drug (right image) and niosomes containing drug (left image).

The optimal sonication time was determined to be 24 minutes. By observing the morphological images of the samples, as shown in Figure 3, it is evident that within 40 minutes, the niosomal vesicles have collapsed. Therefore, it can be concluded that a longer sonication time does not further reduce the particle size. Instead, the stress resulting from mechanical energy and the heat generated by ultrasonic waves due to prolonged sonication cause the fusion of the niosomal particle boundaries. The loading rate of Curcumin alone was approximately 73%, and when co-loaded with Gemcitabine, it increased up to approximately 93%. In addition, the loading rate of Gemcitabine in the water-coating stage was 40%, in the lipid layer formation stage was approximately 64%, and when co-loaded with Curcumin, it was approximately 65%. As observed, the individual drugs have a lower loading percentage than when both drugs are loaded simultaneously, indicating the effect of their interaction.

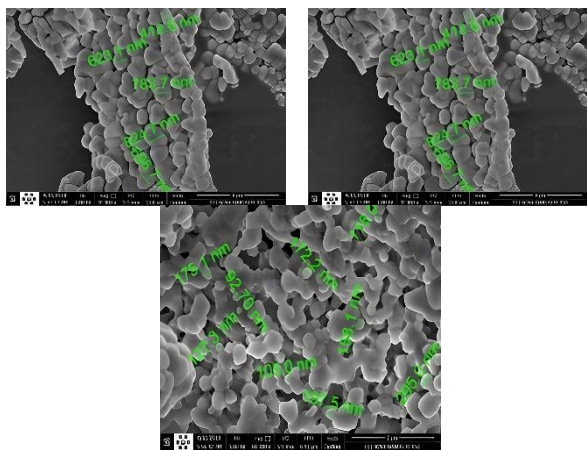


Figure 3. Morphological images obtained from sonication of niosomes particles at 8 minutes (top right), 24 minutes (top left), and 40 minutes (bottom).

The entrapment rate of Curcumin was investigated with three different lipid-to-drug ratios. For a lipid-to-drug ratio of 10, the loading rate was about 73%; for a ratio of 20, the loading rate was about 91%; and for a ratio of 40, it increased up to 95%.

According to the diagram in Figure 4, Curcumin has a slower release rate than Gemcitabine due to its hydrophobic nature. For this reason, 38% of Gemcitabine was released within 48 h, while only 13.5% of Curcumin was released during the same period. It is important to note that the release duration of Curcumin should be longer than that of Gemcitabine because Curcumin is required for its effectiveness (Pastorelli et al., 2018).

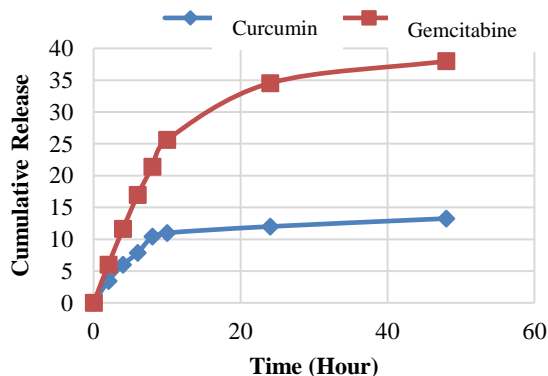


Figure 4. Drug release diagram in co-loading of Curcumin (blue) and Gemcitabine (red).

4. CONCLUSION

The effect of sonication time on the particle morphology and size was investigated. It was observed that increasing the sonication time did not affect particle size; however, the physical energy from ultrasonic waves and the heat generated from the energy conversion of these waves had an adverse effect on the shape of the niosome vesicles, causing them to fuse and their boundaries to collapse into each other. A duration of 24 min was selected as the optimal time for this step.

Then, the effect of increasing the percentage of cholesterol on the loading rate of Curcumin was investigated. An increase in loading was observed due to the hydrophobic property of this drug. However, despite the advantage of increasing drug accumulation in

niosomes, the toxicity caused by the system's components is not negligible. To deliver the same amount of drug, a higher content of niosomes than the drug itself would be required, which, in addition to not being worth the toxicity caused by the system's components, is not cost-effective.

Since the targeting mechanism in this system is passive and requires an appropriate particle size in the range of 100–800 nm, we were able to prepare particles with dimensions of 296 nm, which are suitable for passive tumor targeting.

To evaluate the effect of the hydrophilic drug loading method on the loading percentage and reduction in the release rate, Gemcitabine was stored in niosomes using two different methods. The loading percentages of this drug in the two cases were significantly different_ 40% in the first case and 64% in the second case. This difference was related to the location of Gemcitabine in the niosomes layers. According to the findings, drug release was faster in the first case and slower in the second, which is attributed to the drug being trapped within the lipid layer.

Subsequently, according to the desired outcome of the loading method, both drugs were dissolved in an organic solvent and loaded simultaneously in a passive manner. The percentage of drug loading and their release process indicated that the loading percentage was higher when both drugs were loaded together in the system compared to when they were loaded separately. The difference in the release process also depended on the degree of drug hydrophilicity. Due to its higher hydrophobicity compared to Gemcitabine, Curcumin exhibited a much slower release process. Within 48 hours, 13.25% of the Curcumin drug was released, compared to 38% of the Gemcitabine drug.

5. ACKNOWLEDGEMENT

This student project was financially supported by Materials and Energy Research Center (MERC, Iran) with the project number of 781401051.

REFERENCES

- Kassem, M. A., El-Sawy, H. S., Abd-Allah, F. I., Abdelghany, T. M., & El-Say, K. M. (2017). Maximizing the Therapeutic Efficacy of Imatinib Mesylate-Loaded Niosomes on Human Colon Adenocarcinoma Using Box-Behnken Design. *J Pharm Sci*, 106(1), 111-122. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.07.007>
- Kheiri, H. (2014). Construction of Polyurethane Polymeric-based Nano-carriers for Curcumin in Cancer Therapy. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology*, Vol. 17, Pages: 25-39.
- Yang, W., Hu, Q., Xu, Y., Liu, H., & Zhong, L. (2018). Antibody fragment-conjugated Gemcitabine and paclitaxel-based liposome for effective therapeutic efficacy in pancreatic cancer. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 89, 328-335. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.011>
- Parsian, M., Mutlu, P., Yalcin, S., Tezcaner, A., & Gunduz, U. (2016). Half generations magnetic PAMAM dendrimers as an effective system for targeted Gemcitabine delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 515(1), 104-113. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.10.015>
- Khoury, H., Deroussent, A., Reddy, L. H., Couvreur, P., Vassal, G., & Paci, A. (2007). Simultaneous determination of Gemcitabine and Gemcitabine-squalene by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in human plasma. *Journal of Chromatography B*, 858(1), 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.08.018>
- Mathew, D., & Hsu, W. L. (2018). Antiviral potential of curcumin. *Journal of Functional Foods*, 40, 692-699. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.017>
- Bisht, S., Feldmann, G., Soni, S., Ravi, R., Karikar, C., Maitra, A., & Maitra, A. (2007). Polymeric nanoparticle-encapsulated

- curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 5(1), 3. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-5-3>
8. Ali, S., Ahmad, A., Banerjee, S., Padhye, S., Dominiak, K., Schaffert, J. M., Wang, Z., Philip, P. A., & Sarkar, F. H. (2010). Gemcitabine sensitivity can be induced in pancreatic cancer cells through modulation of miR-200 and miR-21 expression by curcumin or its analogue CDF. *Cancer Res*, 70(9), 3606-3617. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.Can-09-4598>
 9. Pastorelli, D., Fabricio, A., Giovanis, P., D'Ippolito, S., Fiduccia, P., Soldà, C., Buda, A., Sperti, C., Bardini, R., Da Dalt, G., Rainato, G., Gion, M., & Ursini, F. (2018). Phytosome complex of Curcumin as complementary therapy of advanced pancreatic cancer improves safety and efficacy of gemcitabine: Results of a prospective phase II trial. *Pharmacological Research*, 132. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.03.013>
 10. Hood, E., Gonzalez, M., Plaas, A., Strom, J., & VanAuker, M. (2007). Immuno-targeting of nonionic surfactant vesicles to inflammation. *International Journal of Pharmaceutics*, 339(1), 222-230. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.12.048>
 11. Sharma, V., Anandhakumar, S., & Sasidharan, M. (2015). Self-degrading niosomes for encapsulation of hydrophilic and hydrophobic drugs: An efficient carrier for cancer multi-drug delivery. *Materials Science and Engineering: C*, 56, 393-400. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.06.049>
 12. Xu, H., Paxton, J., Lim, J., Li, Y., & Wu, Z. (2014). Development of a gradient high performance liquid chromatography assay for simultaneous analysis of hydrophilic gemcitabine and lipophilic curcumin using a central composite design and its application in liposome development. *J Pharm Biomed Anal*, 98, 371-378. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.06.022>
 13. Tavano, L., Muzzalupo, R., Picci, N., & De Cindio, B. (2013). Co-encapsulation of lipophilic antioxidants into niosomal carriers: Percutaneous permeation studies for cosmeceutical applications. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 114C, 144-149. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.055>



مقاله‌ی کامل پژوهشی

طراحی و بهینه‌سازی سامانه‌ی نیوزومی با بارگذاری هم‌زمان داروهای جمسیتابین و کورکومین به‌منظور کاربرد در شیمی‌درمانی سرطان

امین رحیمی‌نژاد^۱، مژگان حیدری^{۲*}، فریبا تاج‌آبادی^۲

^۱ دانشجوی دکتری، پژوهشکده‌ی فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج، ایران

^۲ دانشیار، پژوهشکده‌ی فناوری نانو و مواد پیشرفته، پژوهشگاه مواد و انرژی، کرج، ایران

تاریخچه‌ی مقاله:

ثبت اولیه: ۱۴۰۳/۱۱/۳۰

بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۱۳

پذیرش قطعی: ۱۴۰۳/۱۲/۲۸

کلیدواژه‌ها:

نانونیوزوم،

کورکومین،

جمسیتابین،

رهایش هم‌زمان،

رهایش دارو

چکیده سرطان پانکراس از جمله بیماری‌های با مرگ‌ومیر بالا در جهان محسوب می‌شود و تلاش‌های بسیاری برای درمان این بیماری انجام شده است. از جمله داروهای بسیار تأثیرگذار در این بیماری داروی جمسیتابین است. این دارو نیمه‌عمر کوتاهی دارد و پس از مدتی مقاومت دارویی ایجاد می‌کند. به‌منظور بهبود عملکرد این دارو نیاز است تا از حامل برای آن استفاده شود و همچنین داروی دیگری با نام کورکومین هم‌زمان استفاده شود تا تأثیر آن را افزایش دهد. استفاده از سامانه‌های دارورسانی نوین می‌تواند در رفع این چالش مؤثر باشد. به همین منظور، در این تحقیق از سامانه‌ی وزیکولی نیوزومی به‌منظور بارگذاری هم‌زمان دو دارو استفاده شد. به‌منظور طراحی سامانه‌ی مطلوب و مهندسی‌شده، آزمون‌های مختلفی انجام شد. نتایج نشان داد نسبت بهینه‌ی لیپید به دارو باید ۲۰ باشد. همچنین، زمان پخش کردن با فراصوت بهینه حدود ۲۴ دقیقه انتخاب شد که حاصل آن نیوزوم‌هایی با اندازه‌ی ۲۴۱ نانومتر بود که برای عبور از منافذ بین‌یاخته‌ای سلول‌های سرطانی بسیار مناسب است. تصاویر SEM نیز نشان‌دهنده‌ی کروی بودن و تشکیل وزیکول‌ها بود. با بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر در ساخت، بارگذاری برای داروی کورکومین به ۹۳ درصد و برای داروی جمسیتابین به ۶۵ درصد رسید. میزان رهایش داروها در بارگذاری هم‌زمان پس از ۴۸ ساعت برای جمسیتابین ۳۸ درصد و برای کورکومین ۱۳/۵ درصد به دست آمد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سیستم دارورسانی نیوزومی با بارگذاری هم‌زمان داروهای جمسیتابین و کورکومین به‌منظور کاربرد در شیمی‌درمانی سرطان مناسب است.



<https://doi.org/10.30501/jamt.2025.506719.1320>

URL: https://www.jamt.ir/article_217650.html

۱- مقدمه

(Goje et al., 2011). بهره‌مندی از فناوری نانو شیوه‌ی توسعه‌یافته برای مبارزه با سرطان و شکست آن است (Kassem et al., 2017). یکی از این روش‌ها، که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است، ارسال دارو به تومور توسط کپسوله کردن دارو در یک حامل زیست‌سازگار و ارسال آن به محل تومور سرطانی است (Kheiri, 2014). به‌طورکلی، به سامانه‌های دارورسانی کنترل‌کننده‌ی زمان و مکان آزادسازی دارو اصطلاحاً سامانه‌های «دارورسانی هوشمند» گفته می‌شود. نانوذرات، به‌عنوان حامل‌های دارویی، شکل جدیدی از رسانش دارو به سلول‌های سرطانی را از طریق ورود به روزنه‌های مویرگ‌های توده‌ی سرطانی که تخلخل‌هایی در گستره‌ی بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰

سرطان پانکراس زمانی رخ می‌دهد که سلول‌های غده‌ی پانکراس به‌صورت خارج از کنترل شروع به تکثیر می‌کنند و یک توده تشکیل می‌دهند که توانایی حمله به دیگر بخش‌های بدن را دارد. در ایالات متحده، سرطان پانکراس میزان بالای مرگ‌ومیر و ایجاد بیماری به‌دلیل متاستاز بالا را دارد و پیش‌بینی آن ضعیف است (Hariharan et al., 2008). اثربخشی داروهای شیمی‌درمانی ضدسرطان همراه با عوارض جانبی است. سرطان می‌تواند بدون عوارض جانبی درمان شود، اگر داروهای ضد سرطان در مکان، غلظت و زمان مناسب تحویل داده شوند

عهده‌دار مکاتبات: مژگان حیدری

نشانی: ایران، کرج، پژوهشگاه مواد و انرژی، پژوهشکده‌ی فناوری نانو و مواد پیشرفته

پیام‌نگار: M.Heydari@merc.ac.ir

سرطان پانکراس افزایش دهد. شواهد حاکی از آن است که داروی کورکومین می‌تواند این مشکل را رفع کند ([Barani et al., 2018](#)).

کورکومین^۲ (دی‌فلرویل متان) نوعی داروی گیاهی و ماده‌ی اصلی استخراج‌شده از ریزم (روغن ساقه‌ی زیرزمینی) زردچوبه است که ۷۷ درصد کورکومینوئیدهای زردچوبه را به خود اختصاص داده است ([Mathew & Hsu, 2018](#)). کورکومین نوعی ترکیب پلیفونیک آب‌گریز بسیار مؤثر در برابر بسیاری از سلول‌های سرطانی مانند سرطان‌های پستان، پروستات، استخوان، ریه، دستگاه گوارش و به‌طور خاص سرطان پانکراس است. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کورکومین باعث از بین بردن رادیکال‌های آزاد بیولوژیکی است که در طول فرایندهای فیزیولوژیک تولید می‌شوند ([Bisht et al., 2007](#); [Sharma et al., 2015](#)). کورکومین از رسیدن مواد مغذی و اکسیژن به سلول‌های تومور جلوگیری می‌کند و جوانه‌زنی عروق خونی جدید (عروق تومور) از عروق پیش از آن (آنژیوژنز)^۳ را مهار می‌کند. نانوکورکومین همچنین سطوح سیتوکین‌های ضدالتهابی مثل اینترلوکین‌ها^۴ را کاهش می‌دهد و از فعال‌سازی فاکتور رونویسی NF-κB می‌کاهد ([Giri, 2016](#)).

اما کورکومین دارویی به‌شدت آب‌گریز است و به‌تنهایی قادر به رسیدن به سلول هدف نیست. درواقع، به‌دلیل طول عمر کوتاه در سرم، فرصت نمی‌کند سازوکار عمل خود را فعال کند ([Hemmati et al., 2021](#)). بنابراین، نیاز به یک حامل است تا با حفظ کورکومین از متابولیت‌های موجود و افزایش آب‌دوستی آن را حمل کند و به‌صورت هدفمند به سلول‌های سرطانی مورد نظر برساند. نشان داده شده است که نیوزوم‌ها حامل‌های بهتری برای محافظت از کورکومین در برابر تخریب محسوب می‌شوند ([Giri, 2016](#)). نتایج نشان می‌دهد که کورکومین در سلول‌های سرطانی پانکراس آثار ضدتوموری جمسیتابین را تقویت می‌کند ([Mathew & Hsu, 2018](#)). درنتیجه، درمان ترکیبی جمسیتابین و کورکومین نه‌تنها ایمن است، بلکه نرخ پاسخ‌گویی بسیار خوبی در درمان سرطان پانکراس پیشرفته نشان می‌دهد. گفتنی است، در بیماران مبتلا به سرطان پانکراس مقاوم در برابر جمسیتابین،

نانومتر دارند ارائه می‌دهند. این فرایند سبب رسانش غلظت بالایی از دارو به‌طور اختصاصی به سلول‌های سرطانی می‌شود و آثار تخریبی بر روی بافت‌های سالم را کاهش می‌دهد. در اکثر بافت‌های سالم مانند قلب، مغز و شش پیوندهای بین‌باخته‌ای باریکی با اندازه‌ی کمتر از ۱۰ نانومتر وجود دارد. بنابراین، تومورهای موجود در این نوع بافت‌ها را می‌توان به‌شکل انتخابی با ساختن نانوساختارهای دارورسانی بزرگ‌تر از فاصله‌ی بین‌باخته‌ای بافت‌های سالم و کوچک‌تر از تخلخل‌های عروق تومور مورد هدف قرار داد ([Benita, 2005](#)).

یکی از نانوذرات، که در دارورسانی هدفمند استفاده می‌شود، وزیکول‌های نیوزومی هستند. نیوزوم‌ها سامانه‌های کروی شکل زیست‌سازگاری هستند که از سورفکتانت‌های غیریونی تشکیل شده‌اند و، به‌دلیل ماهیت خود، توانایی به دام‌اندازی داروهای آب‌دوست و آب‌گریز را دارند. نیوزوم‌ها توانایی به دام انداختن انواع مختلف داروها، هورمون‌ها، ژن‌ها، پروتئین‌ها، پپتیدها و واکسن‌ها را دارند. همچنین، داروهای ضدسرطان به همراه نیوزوم در مقایسه با داروی آزاد نتایج بهتری دارند ([van Kan, 2012](#); [Davelaar, 2014](#)).

جمسیتابین^۱ (۲ و ۲ دی‌فلورو دی‌اکسی سایتیدین) نوعی آنالوگ نوکلئوزید است که اولین درمان سرطان پانکراس به شمار می‌رود ([Yang et al., 2018](#)). این دارو خواص ضدسرطانی خود را در درمان سرطان‌های سینه، کولون و مثانه نشان داده است ([Parsian et al., 2016](#)). جمسیتابین با وزن مولکولی پایین نوعی داروی آب‌دوست محسوب می‌شود که نیمه‌عمر کوتاهی در پلاسما دارد و به‌دلیل طبیعت آب‌دوست نمی‌تواند از غشای سلولی از طریق سازوکار انتشار فعال عبور کند. پس، نیاز است تا با اتصال به یک عامل یا بارگذاری در یک حامل در کاربرد بالینی به کار رود تا، علاوه بر غلبه بر مقاومت دارویی، آن را در مقابل تخریب پلاسما محافظت کند و از این طریق خاصیت ضدسرطانی آن افزایش یابد ([Khoury et al., 2007](#); [Parsian et al., 2016](#)). در سرطان پانکراس، مقاومت به داروی جمسیتابین در طول زمان افزایش می‌یابد. بنابراین، به‌عاملی نیاز است که اثر جمسیتابین و غلبه بر مقاومت شیمیایی به دارو را در درمان

سورفکتانت و کلسترول به نسبت ۱:۱ توزین شد و جداگانه به حلال کلروفرم با غلظت لیپیدی ۰/۰۲ مولار اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی هم‌زن مغناطیسی قرار گرفت. سپس، همی نمونه‌ها با هم ترکیب شدند. برای خارج کردن حلال از دستگاه تبخیرکننده‌ی چرخان^۱ به مدت ۴۰-۶۰ دقیقه و با دور ۱۵۰ و دمای ۶۵ درجه‌ی سلسیوس (Laborota 4000, Heidolph, Germany) استفاده شد. به این ظرف حاوی دولایه‌ی لیپیدی مقداری فسفات بافر سالین اضافه شد و به غلظت ۰/۰۱ مولار رسید. برای همگن شدن ذرات نیوزوم، نمونه به مدت ۲۴ دقیقه در مخزن دستگاه پخش‌کننده‌ی فراصوت حمامی^۲ با دمای ۳۰ درجه‌ی سلسیوس، توان ۱۷۰ وات و فرکانس ۳۵ کیلوهرتز (CODYSON Digital Ultrasonic Cleaner, CD-4820, China) قرار گرفت (Hood et al., 2007).

۲-۲-۳- بارگذاری داروهای جمسیتابین و کورکومین در حامل نیوزومی

تهیه‌ی نیوزوم حاوی دارو تفاوت چندانی با نیوزوم فاقد دارو ندارد. تنها تفاوت این است که داروی آب‌گریز در حلال مربوطه حل شد و در مرحله‌ی قبل از تبخیر حلال به مواد تشکیل‌دهنده‌ی نیوزوم اضافه شد تا حلال توسط دستگاه تبخیرکننده‌ی چرخان خارج شود. داروی آب‌دوست نیز در مرحله‌ی آب‌پوشانی به محتویات لیپیدی نیوزوم اضافه شد (Sharma et al., 2015).

نسبت لیپید به دارو (L/D) (L=Lipid, D=Drug) ۲۰ در نظر گرفته شد و ۴/۳ میلی‌گرم داروی کورکومین در اتانول حل و به محتوای نیوزوم در کلروفرم اضافه شد. سپس، ۳/۱ میلی‌گرم داروی جمسیتابین به مدت ۲۴ ساعت در اتانول حل شد (Yang et al., 2018) و یک بار در مرحله‌ی تشکیل دولایه‌ی لیپیدی اضافه شد و بار دیگر در فسفات بافر سالین حل و در مرحله‌ی آب‌پوشانی اضافه شد (Xu et al., 2014).

۲-۲-۳- مشخصه‌یابی

۲-۳-۱- آنالیز و بررسی مواد و داروها

طیف جذبی هر یک از داروها در محدوده‌ی ۱۹۰ تا ۹۰۰ نانومتر تهیه شد. برای بررسی تداخل دارویی داروها با یکدیگر و با دیگر مواد موجود در ساختار نیوزوم، از جمله اسپن ۶۰،

کورکومین متوسط زمان بقا را افزایش می‌دهد (Ali et al., 2010); در واقع، ترکیب این دو دارو باعث کاهش رشد تومور و آثار ضدالتهابی چشمگیری خواهد شد که بسیار مؤثرتر از زمانی است که هر یک به تنهایی استفاده شوند. لذا، تصمیم گرفته شد در این پژوهش تلاش شده است، با استفاده از قابلیت دولایه بودن نیوزوم و امکان بارگذاری هم‌زمان دو دارو در آن، جمسیتابین و کورکومین با هم بارگذاری شوند و سامانه‌ی مهندسی‌شده‌ی طراحی شود.

۲- مواد و روش تحقیق

۲-۱- مواد

در این پژوهش از اسپن ۶۰ و توین ۶۱ به‌عنوان سورفکتانت، کلسترول به‌منظور افزایش سیالیت غشا و از کلروفرم برای حل کردن سورفکتانت‌ها و کلسترول استفاده شد که از شرکت مرک آلمان تهیه شده‌اند. برای محیط بافری نیز از فسفات بافر سالین با pH=۷/۴ شرکت گیبکو امریکا (PBS, Gibco, USA) استفاده شد. اتانول برای حل کردن داروهای جمسیتابین و کورکومین از شرکت هامون طب ایران تهیه شد. داروهای جمسیتابین و کورکومین به‌ترتیب از شرکت‌های سیگما و مرک آلمان تهیه شدند.

۲-۲- ساخت

۲-۲-۱- فسفات بافر سالین (PBS)

برای تهیه‌ی بافر PBS، مطابق با دستورالعمل مندرج بر محصول، میزان ۹۸۰ میلی‌گرم از پودر به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه اضافه و به آن اجازه داده شد به‌آرامی حل شود (Monteith, 2018).

۲-۲-۲- تهیه‌ی نیوزوم به روش آب‌پوشانی لایه‌ی نازک

برای تهیه‌ی نیوزوم در این پژوهش از اسپن ۶۰، توین ۶۱ و کلسترول به‌ترتیب با نسبت ۰/۹: ۰/۱: ۱ استفاده شد (Hood et al., 2007). حضور میزان بسیار کمی توین ۶۱ به‌منظور اصلاح سطح برای ادامه‌ی این مطالعه در نظر گرفته شد. روش آب‌پوشانی لایه‌ی نازک با تکرارپذیری بالا و سهولت اجرا به‌عنوان روش تهیه‌ی نیوزوم انتخاب شد (Sharma et al., 2015). بدین‌منظور، ابتدا مواد تشکیل‌دهنده‌ی نیوزوم شامل

۲-۳-۵- تعیین میزان بارگذاری داروها

پس از اتمام مراحل ساخت، نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفتند (Sharma et al., 2015). طی این فرایند نیوزوم‌های حاوی دارو در انتهای فالكون ته‌نشین شدند. سپس، در طول موج بیشینه‌ی دارو، میزان عدد جذب ثبت شد و با توجه به نمودار استاندارد جذب-غلظت میزان داروی بارگذاری‌نشده تعیین (Farazi et al., 2017) و با استفاده از رابطه‌ی زیر میزان بارگذاری دارو در سامانه محاسبه شد.

$$\%EE = (W_T - W_F) \times 100 / W_T \quad (1)$$

در این رابطه، $EE\%$ درصد داروی بارگذاری‌شده در نیوزوم‌ها، W_T غلظت کل داروی استفاده‌شده و W_F غلظت داروی آزادشده است (Sharma et al., 2015).

۲-۳-۶- مقایسه‌ی میزان بارگذاری دارو در دو حالت تک‌دارو و دو-دارو

برای این منظور، داروهای جمسیتابین و کورکومین هرکدام جداگانه و نیز بار دیگر هر دو هم‌زمان در نیوزوم بارگذاری شدند. نمونه‌های حاوی یک دارو نمونه‌ی کنترل و به‌منظور مقایسه با نمونه‌ی حاوی دو-دارو در نظر گرفته شد. درصد بارگذاری داروها در هر دو حالت محاسبه و مقایسه شد.

۲-۳-۷- مقایسه‌ی میزان بارگذاری داروی جمسیتابین به دو روش آب‌دوست و آب‌گریز

داروی جمسیتابین یک بار به روش آب‌گریز در حلال اتانول حل شد و قبل از مرحله‌ی روتاری به ترکیب نیوزومی محلول در کلروفرم اضافه شد (Yang et al., 2018). بار دیگر، در فسفات بافر سالین حل شد و در مرحله‌ی آب‌پوشانی به دولایه‌ی لیپیدی اضافه شد (Xu et al., 2014). سپس، میزان بارگذاری و درصد رهایش آن در هر دو روش محاسبه و بررسی شد.

۲-۳-۸- بررسی روند رهایش دارو

حجم معین از حامل حاوی دارو در ظرف ریخته شد و در انکوباتور تکان‌دهنده^۲ با دمای بدن (۳۷ درجه‌ی سلسیوس) و سرعت ۲۰۰ دور بر دقیقه به‌منظور شبیه‌سازی شرایط بدن قرار گرفت.

تویین ۶۱ و کلسترول، میزان جذب هریک در بیشترین طول موج (λ_{max}) داروها بررسی شد.

۲-۳-۲- رسم نمودار استاندارد جذب-غلظت داروها در دستگاه طیف‌سنج مرئی-فرابنفش

برای رسم این نمودار، چند نمونه با غلظت‌های مختلف هر دارو تهیه شد و با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش^۱ (UV-Visible Spectroscopy, SPECORD 210, Analytik (Jena AG, Germany) انجام شد. میزان جذب هریک به دست آمد. این غلظت‌ها برای داروی جمسیتابین ۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰ و برای کورکومین ۰/۵، ۱، ۵، ۱۰، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در نظر گرفته شد. از آنجاکه رهایش این دو دارو در PBS است، نمودار منحنی استاندارد نیز باید در PBS رسم شود. اما، به‌دلیل حد حلالیت کم داروی کورکومین در آب (حدود ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) (Jyoti et al., 2016)، برای این کار ابتدا یک محلول غلیظ از کورکومین در اتانول (یک میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر) تهیه شد و سپس با PBS رقیق شد.

۲-۳-۳- تعیین زمان مناسب پخش کردن با فراصوت

پخش کردن با فراصوت توسط دستگاه دیجیتالی فراصوت CODYSON Digital Ultrasonic Cleaner, CD-4820, (China) با توان ۱۷۰ وات و فرکانس ۳۵ کیلوهرتز انجام شد. زمان انجام فرایند بر کاهش اندازه، همگن شدن ذرات و توزیع یکنواخت اندازه‌ی ذرات تأثیرگذار است. برای یافتن زمان بهینه‌ی استفاده از پخش‌کننده‌ی فراصوت به‌ترتیب از زمان‌های ۸، ۲۴ و ۳۲ دقیقه استفاده شد و اندازه‌ی ذرات با استفاده از دستگاه پراکندگی دینامیکی نور (DLS) اندازه‌گیری شد (Thongpon et al., 2025).

۲-۳-۴- تعیین نسبت بهینه‌ی چربی به دارو (L/D)

اعداد ۱۰، ۲۰ و ۴۰ برای نسبت لیپید به داروی (L/D) کورکومین در نظر گرفته شد. سپس، دارو در اتانول حل و به محتوای نیوزوم در کلروفرم اضافه شد (Gugleva et al., 2022). به این ترتیب، سه نمونه با نسبت‌های متفاوت (L/D) تهیه شدند. سپس، با محاسبه‌ی درصد انباشت دارو در هریک، نسبت بهینه مشخص شد.

۲-۳-۱۰- ریخت‌شناسی نیوزوم‌ها

برای بررسی ریخت‌شناسی نیوزوم‌ها از میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM)، (Seron Technology,) (AIS-2100, Korea) استفاده شد. سوسپانسیون تهیه‌شده ۴۰ برابر رقیق شد و به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه خشک‌کن انجمادی (Freeze Dryer, Alpha 1-2 LD Plus, Martin-Christ,) (Germany) قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

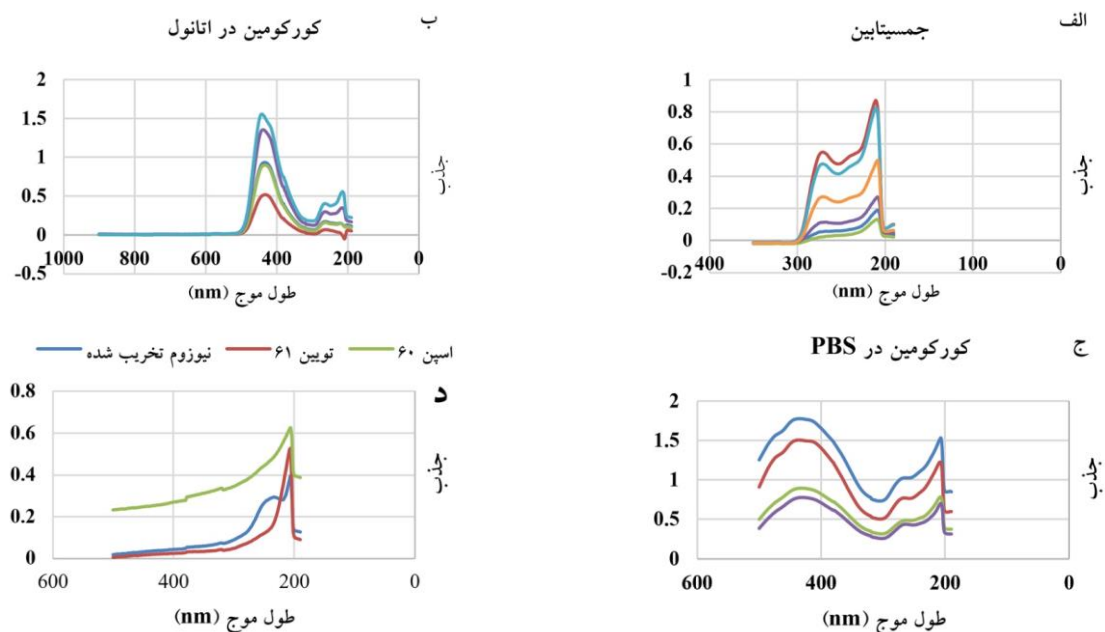
۳-۱- طیف جذبی داروی جمسیتابین، کورکومین و اجزای نیوزوم

در شکل ۱، طیف جذبی داروهای جمسیتابین (شکل ۱-ا) الف)، کورکومین در حلال اتانول (شکل ۱-ب) و حلال فسفات بافر سالین (شکل ۱-ج) و همچنین اجزای تشکیل‌دهنده نیوزوم (شکل ۱-د) قابل مشاهده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، همه‌ی غلظت‌های جمسیتابین در طول موج ۲۷۰ نانومتر بیشترین جذب را از خود نشان داده است (Song et al., 2014; Xu et al., 2014). غلظت‌های مختلف کورکومین در طول موج ۴۲۰ نانومتر (در فسفات بافر سالین) و در ۴۳۴ نانومتر (در اتانول) بیشترین جذب را از خود نشان داده‌اند که کاملاً مطابق با مقالات است (Xu et al., 2014).

سپس، در زمان‌های مقرر (۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۲۴ و ۴۸ ساعت) نمونه‌ی سانتریفیوژ شده و داروهای رهایش‌یافته اندازه‌گیری شدند. از آنجاکه داروی کورکومین به شدت آب‌گریز است و حلالیت آن در آب بسیار ناچیز است، میزان رهایش آن با استفاده از منحنی استاندارد کورکومین در اتانول بررسی شد (Sharma et al., 2015). برای محاسبه‌ی رهایش جمسیتابین در شیوه‌ی بارگذاری به روش دو دارو به دلیل اینکه داروی کورکومین نیز یک پیک کوچک در ۲۷۰ نانومتر دارد، ابتدا با استفاده از غلظت‌های معلوم یک منحنی استاندارد برای کورکومین در ۲۷۰ نانومتر رسم شد. سپس، غلظت داروی کورکومین در طول موج بیشینه‌ی خود (۴۲۰ نانومتر) محاسبه شد و در هر نقطه‌ی زمانی این غلظت در معادله‌ی حاصل از منحنی جذب-غلظت کورکومین در ۲۷۰ نانومتر قرار داده شد و جذب متناظر به دست آمد. از تفاضل جذب این دو دارو در ۲۷۰ نانومتر، جذب خالص جمسیتابین در این طول موج به دست آمد.

۲-۳-۹- بررسی توزیع اندازه‌ی ذرات

به منظور بررسی توزیع اندازه‌ی ذرات از روش پراکندگی دینامیکی نور^۱ (Zetasizer Nano ZS, model 3000HAs,) (Malvern, UK) با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محلول نیوزومی استفاده شد.



شکل ۱. الف) طیف جذبی داروهای جمسیتابین در PBS، ب) کورکومین در اتانول، ج) کورکومین در PBS، و د) اسپن ۶۰، توین ۶۱ و نیوزوم تخریب‌شده در PBS

اندازه‌ی ذرات در نیوزوم‌های خالی ۲۹۷ نانومتر و در نیوزوم‌های حاوی دارو ۳۱۵ نانومتر است. همچنین، شاخص پراکنندگی (Polydispersity Index=PdI) در حالت اول ۰/۲ و در حالت دوم ۰/۳ است. مقدار PdI حدود ۰/۲ باریک بودن منحنی توزیع اندازه‌ی ذرات را نشان می‌دهد. به‌طور کلی، مقادیر PdI کمتر از ۰/۳ نشان‌دهنده‌ی توزیع اندازه‌ی ذرات مناسب و کیفیت خوب سامانه‌های کلوئیدی است (Tavano et al., 2013). نیوزوم‌های ساخته‌شده از توپین ۸۰ حاوی دو داروی کورکومین و دوکسوروبیسین اندازه‌ای مشابه یعنی 250 ± 20 نانومتر داشتند (Sharma et al., 2015). نیوزوم‌هایی با ترکیب مشابه این پروژه با اندازه‌ی ۵۷۰ نانومتر تهیه شد که البته بزرگ‌تر بودن اندازه‌ی این نیوزوم‌ها به دلیل حضور آنتی‌بادی در ساختار آن‌ها است (Hood et al., 2007).

همان‌طوری که مشاهده می‌شود، اندازه‌ی نیوزوم‌های حاوی دارو اندکی از نیوزوم‌های خالی از دارو بزرگ‌تر است که این تفاوت به افزایش حجم دولایه‌ی چربی به دلیل حضور دارو در آن مربوط می‌شود. اندازه‌ی لیپوزوم‌های به‌دست‌آمده توسط یانگ و همکاران (Yang et al., 2018) نیز پیش از بارگذاری دارو ۱۱۵ نانومتر بود و پس از انباشت جمسیتابین و پاکلی تاکسل به ۱۳۵ نانومتر افزایش یافت (Yang et al., 2018).

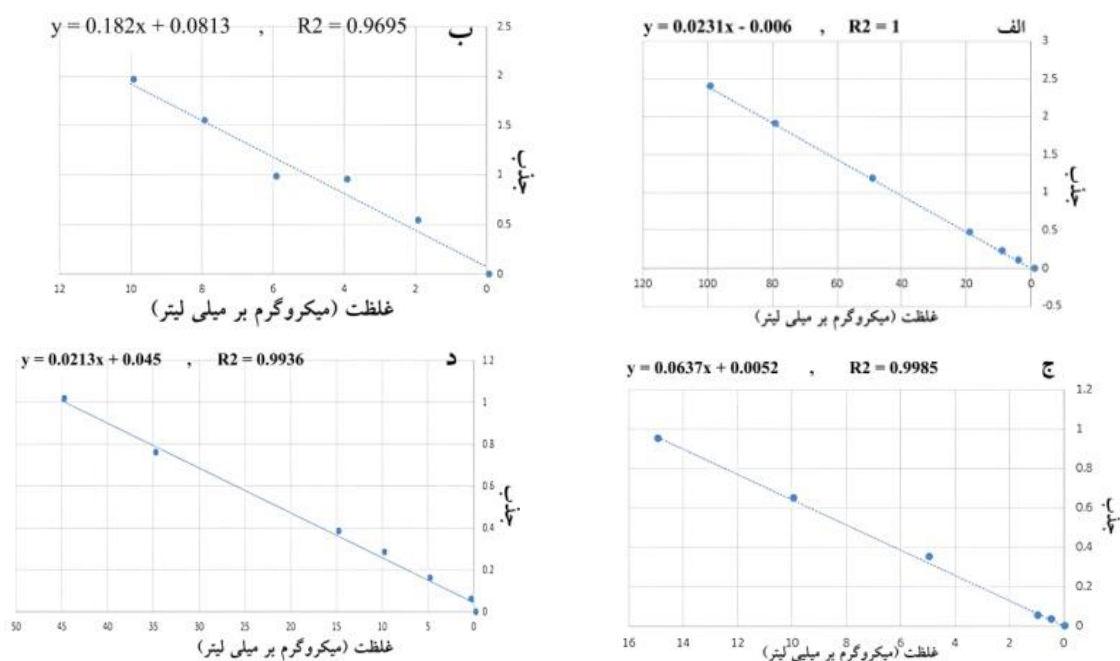
در طول موج ۲۷۰ نانومتر، که طول موج بیشینه‌ی داروی جمسیتابین نیز هست، بیشینه‌ی دیگری مشهود است. از آنجاکه در مایع‌رویی^۱، علاوه بر داروها، نیوزوم تخریب‌شده نیز وجود دارد، نیاز است تا طیف جذبی نیوزوم نیز تهیه شود (شکل ۱-د) و رفتار آن در طول موج‌های بیشینه‌ی هر دو دارو بررسی شود. هرچند این مواد در ۲۷۰ نانومتر و ۴۲۰ نانومتر بیشترین جذب را نشان نمی‌دهند، همین میزان جذب هم در صورتی که در نظر گرفته نشود باعث خطا می‌شود.

۲-۳- منحنی استاندارد جذب-غلظت

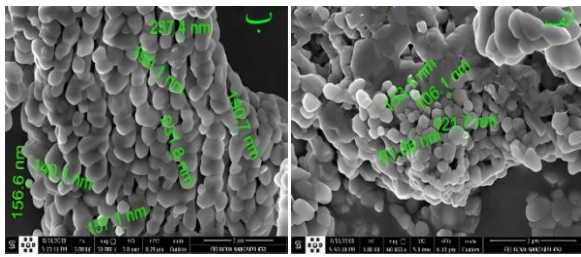
منحنی استاندارد متناظر با هر نمونه در بیشینه‌ی جذب هر دارو رسم شد. از آنجاکه داروی کورکومین در طول موج بیشینه‌ی داروی جمسیتابین (۲۷۰ نانومتر) نیز بیشینه‌ی جذب را نشان می‌دهد، غلظت‌هایی از کورکومین در PBS ساخته شد، جذب آن‌ها در طول موج ۲۷۰ نانومتر خوانش شد و منحنی استاندارد آن در این طول موج رسم شد (شکل ۲).

۳-۳- بررسی توزیع اندازه‌ی ذرات

نیوزوم‌ها در دو حالت همراه با دارو و بدون آن تهیه شدند و اندازه‌ی آن‌ها توسط روش پراکنندگی دینامیکی نور تعیین شد. نتایج حاصل از این آزمون (شکل ۳) نشان می‌دهد که متوسط



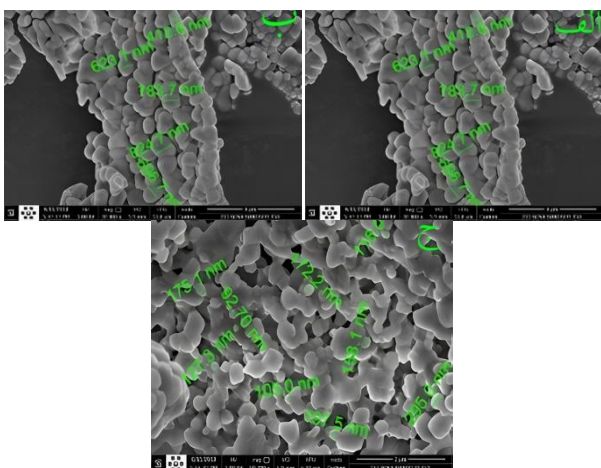
شکل ۲. (الف) منحنی‌های استاندارد رسم‌شده برای داروی جمسیتابین در PBS در طول موج ۲۷۰ نانومتر، (ب) داروی کورکومین در اتانول در طول موج ۴۳۴ نانومتر، (ج) داروی کورکومین در PBS در طول موج ۲۷۰ نانومتر، و (د) داروی کورکومین در PBS در طول موج ۲۷۰ نانومتر



شکل ۴. تصاویر ریخت‌شناسی حاصل از آزمون FESEM: (الف) نیوزوم‌های بدون دارو، و (ب) نیوزوم‌های حاوی دارو

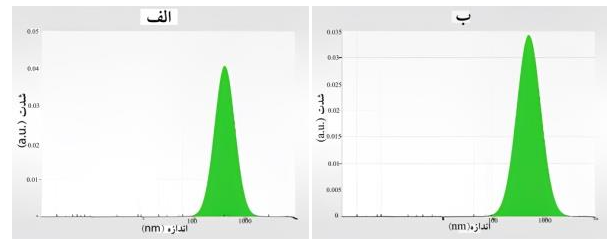
۳-۵- بررسی اثر زمان پخش‌کننده‌ی فراصوت بر ریخت‌شناسی نیوزوم

همان‌طور که در جدول ۱ نتایج حاصل از پخش‌کننده‌ی فراصوت نمونه‌های نیوزومی نشان می‌دهد، مدت زمان بهینه برای انجام این فرایند ۲۴ دقیقه است. با مشاهده‌ی تصاویر ریخت‌شناسی نمونه‌ها که در شکل ۴ قابل مشاهده است، در ۴۰ دقیقه (شکل ۵-ج)، وزیکول‌های نیوزومی دچار درهم‌فرورفتگی شده‌اند. پس، نتیجه گرفته می‌شود که نه تنها زمان بیشتر استفاده از پخش‌کننده‌ی فراصوت اثری بر کاهش بیشتر اندازه‌ی ذرات ندارد، بلکه تنش حاصل از انرژی مکانیکی و نیز گرمای ایجادشده توسط امواج فراصوت بر اثر طولانی شدن زمان فرایند باعث هم‌جوشی مرز ذرات نیوزوم شده است. پژوهشی مشابه نیز زمان ۳۰ دقیقه را برای قرار دادن نیوزوم‌های ساخته‌شده از توپین ۶۰ در پخش‌کننده‌ی فراصوت حمامی مناسب دانست (Tavano et al., 2013).



شکل ۵. تصاویر ریخت‌شناسی حاصل از ذرات نیوزوم پس از استفاده از پخش‌کننده‌ی فراصوت در (الف) ۸ دقیقه، (ب) ۲۴ دقیقه، و (ج) ۴۰ دقیقه

نهایتاً یانگ و همکاران (Yang et al., 2018) و همچنین فان و همکاران (Fan et al., 2017) این اندازه‌ی ذرات را برای بهره‌مندی از اثر افزایش نفوذپذیری و احتباس^۱ (EPR) مناسب شمرند و این مطلب گواهی بر افزایش احتمال حضور نانوسامانه‌های حاصل در بافت تومور و تجمع آن‌ها در بافت سرطانی است، علاوه بر اینکه بار منفی سطح باعث کاهش اتصالات غیراختصاصی نیز می‌شود (Fan et al., 2017).



شکل ۳. (الف) نمودار اندازه و پراکندگی نانوسامانه‌های نیوزومی خالی، و (ب) نیوزوم‌های حاوی دارو

۳-۴- بررسی ریخت‌شناسی نیوزوم‌ها

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدانی (FESEM) مربوط به ریخت‌شناسی نیوزوم‌ها در شکل ۴ قابل مشاهده است. تصاویر گواهِ نسبتاً کروی بودن نیوزوم‌های تهیه‌شده است. اجرای این آزمون نیازمند تمهیداتی از جمله قرار گرفتن نمونه در خشک‌کن انجمادی است. پس، طبیعی است با خروج حلال و به دست آمدن پودر، ذرات با فاصله‌ی خیلی کمتری در کنار یکدیگر قرار گیرند. میانگین اندازه‌ی ذرات با استفاده از نرم‌افزار ImageJ در تصویر سمت راست ۱۱۵/۴۹ نانومتر و در تصویر سمت چپ ۱۸۶/۲۵ نانومتر محاسبه شد. اختلاف این میانگین‌ها با میانگین اندازه‌ی به‌دست‌آمده از آزمون DLS به دلیل حذف محیط آبی است. ذرات در محیط آبی، به دلیل تشکیل لایه‌ی دوگانه، مقداری بزرگ‌تر می‌شوند و البته به دلیل وجود همین شرایط داخل بدن باید به اندازه‌های حاصل از آزمون DLS استناد کرد و تصاویر SEM را فقط برای بررسی ریخت ذرات و البته اطمینان از تطابق با DLS استفاده کرد. در مطالعه‌ی دیگر نیز با گزارش تصاویر SEM و نیز اندازه‌ی نیوزوم‌های حاصل از آزمون DLS بر این نتایج صحه گذاشتند (Sharma et al., 2015).

و همکاران (Dora et al., 2017)، با بررسی میزان حلالیت جمسیتابین در حلال های مختلف، اتانول را بهترین حلال این دارو دانستند.

جدول ۲. درصد بارگذاری داروهای کورکومین و جمسیتابین با پروتکل های بارگذاری متفاوت (%EE = Encapsulation Efficiency)

درصد بارگذاری (%EE)	پروتکل بارگذاری دارو
۷۳/۳۴	کورکومین به تنهایی بارگذاری شود (نمونه ی کنترل)
۹۳/۰۲	بارگذاری کورکومین به همراه داروی دوم (نمونه ی کنترل)
۴۰	بارگذاری جمسیتابین در مرحله ی آب پوشانی (نمونه ی کنترل)
۶۴	بارگذاری جمسیتابین در مرحله ی تشکیل لایه ی چربی (نمونه ی کنترل)
۶۵/۳۲	بارگذاری جمسیتابین به همراه داروی دوم

۳-۷- مقایسه ی درصد بارگذاری داروی کورکومین بر حسب نسبت چربی به دارو (L/D)

میزان به دام افتادگی داروی کورکومین با سه نسبت متفاوت چربی به دارو بررسی شد که نتایج آن در جدول ۳ آمده است. برای نسبت چربی به دارو ۱۰ میزان بارگذاری حدود ۷۳ درصد، نسبت ۲۰ میزان بارگذاری حدود ۹۱ درصد و برای نسبت ۴۰ این عدد ۹۵ درصد بود. از آنجاکه کورکومین یک داروی آب گریز است، درصد بارگذاری با افزایش درصد کلسترول بیشتر می شود و نیز پیش بینی می شود رهایش آهسته تری نشان دهد. اما نسبت نیوزوم به دارو، یعنی کلسترول و سورفکتانتی که این میزان دارو را حمل می کند، بسیار بالا است و، علاوه بر مقرون به صرفه نبودن، سمیت ایجاد می کند. لذا، این درصد بارگذاری بالاتر سمیت ناشی از نیوزوم را جبران نمی کند. به نظر می رسد میزان بهینه ی این نسبت ۲۰ باشد؛ زیرا درصد بارگذاری در تغییر نسبت ۱۰ به ۲۰ افزایش چشمگیری داشته است، اما این میزان از نسبت ۲۰ به ۴۰ با وجود اختلاف زیاد L/D چندان تفاوتی نداشته است و نرخ افزایش درصد بارگذاری بسیار کند است. علاوه بر این، افزایش میزان چربی زیادتر از حد بهینه موجب افزایش گرانروی ساختار، تجمع و چسبندگی نیوزوم ها به یکدیگر و نیز جلوگیری از رهایش مطلوب دارو خواهد شد. چنین افزایشی در مطالعه ای

جدول ۱. مقایسه ی میانگین اندازه ی نانوسامانه ی نیوزومی در سه مدت زمان متفاوت استفاده از پخش کننده ی فراصوت

زمان استفاده از پخش کننده ی فراصوت (دقیقه)	۸	۲۴	۴۰
میانگین اندازه ی ذرات (nm)	۵۰۹/۵۸	۲۴۱/۲۶	۲۷۰/۵

۳-۶- محاسبه ی درصد بارگذاری داروها

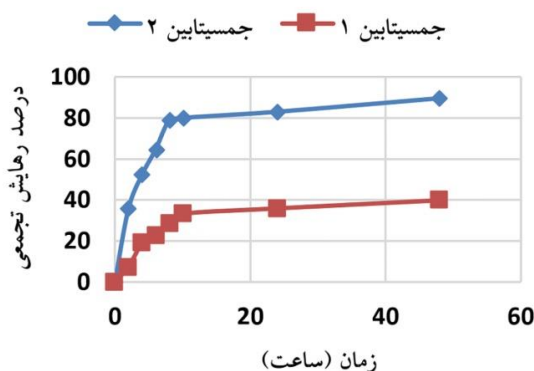
جدول ۲ میزان بارگذاری داروی^۱ کورکومین را به تنهایی حدود ۷۳ درصد و در بارگذاری هم زمان با داروی جمسیتابین حدود ۹۳ درصد نشان می دهد. همچنین، میزان بارگذاری داروی جمسیتابین در مرحله ی آب پوشانی ۴۰ درصد، در مرحله ی تشکیل لایه ی چربی حدود ۶۴ درصد و در صورت بارگذاری هم زمان با داروی کورکومین حدود ۶۵ درصد است. همان طور که مشهود است، داروها در نمونه های کنترل، که به تنهایی بارگذاری شده اند، درصد بارگذاری کمتری از زمانی دارند که هر دو دارو هم زمان بارگذاری شده اند و این می تواند گویای اثر تعامل دو دارو بر هم باشد. به نظر می رسد برهم کنش های دو دارو با هم شرایطی را فراهم کرده تا اتصالات موجود نگهداشت این دو دارو را در کنار هم و داخل حامل تقویت کند (Castelli et al., 2005).

اختلاف فاحش بازده بارگذاری داروی جمسیتابین در دو پروتکل ذکر شده تأمل برانگیز است. شاید بتوان این پدیده را به تفاوت در نحوه ی بارگذاری دارو در حامل نسبت داد و این گونه توجیه کرد که وقتی دارو در حلال آلی حل و در مرحله ی تشکیل لایه ی لیپیدی اضافه می شود، این شانس را دارد که، علاوه بر مرحله ی آب پوشانی، در مرحله ی تشکیل این لایه نیز بارگذاری شود. لذا، احتمال حضور آن در مرکز دولایه ی سامانه ی نیوزومی به مراتب افزایش یافته است. کاستلی و همکاران (Castelli et al., 2005) نیز حضور داروی جمسیتابین در مرکز و غشای نیوزوم را به دلیل ساختار این دارو دانستند که می تواند در هر دو حلال آبی و آلی حل شود و، علاوه بر امکان حضور در قسمت آب گریز، توانایی برقراری پیوند با سطح آب دوست را هم دارد. از طرفی، افزایش انحلال پذیری جمسیتابین در اتانول در مقایسه با آب در ایجاد اتصال با ساختار نیوزوم و در نتیجه افزایش درصد بارگذاری آن اثرگذار است. همان طوری که دورا

تمایل بالاتری به دولایه‌ی چربی می‌چسبد و پیوند قوی‌تری با غشا برقرار می‌کند که شکستن این اتصال به‌راحتی انجام نمی‌شود (Yang et al., 2018).

۳-۹- درصد رهائش تجمعی داروی جمستابین

همان‌طور که در نمودار شکل ۷ مشاهده می‌شود، روش بارگذاری در مرحله‌ی تشکیل لایه‌ی چربی نه‌تنها درصد بارگذاری بیشتری را در پی داشت، بلکه رهائش کنترل‌شده‌تری (نمودار قرمز) نیز دارد. در ۴۸ ساعت ۴۰ درصد جمستابین از نیوزوم آزاد شده است.



شکل ۷. نمودار درصد رهائش تجمعی داروی جمستابین

(نمودار آبی مربوط به روش بارگذاری در مرحله آب‌پوشانی و نمودار قرمز مربوط به روش بارگذاری در مرحله‌ی تشکیل لایه‌ی چربی است).

این در صورتی است که داروی جمستابین بارگذاری شده در مرحله‌ی آب‌پوشانی، که در نمودار آبی‌رنگ شکل ۷ مشخص است، در این مدت تقریباً کاملاً رهائش یافته است. دلیل این اختلاف حضور جمستابین در دولایه‌ی چربی است که آب‌گریزی این ناحیه به دارو اجازه‌ی خروج نمی‌دهد. در مقابل داروی موجود در سطح آب‌دوست مقاومت کمتری در برابر محیط نشان می‌دهد. گفتنی است که رهائش انفجاری در ابتدای نمودار به‌دلیل پدیده‌ی انتشار حاصل از تفاوت غلظت است. این دارو ممکن است مولکول‌های با اتصالات ضعیف به سامانه باشد یا داروی موجود در بین زنجیره‌های اسید چرب که، به‌دلیل حجم زیاد بافر خالی از دارو، یونیزه می‌شود و تا رسیدن به تعادل نسبی این رهائش ادامه می‌یابد (Wissing et al., 2004). شارما و همکاران (Sharma et al., 2015) نیز بر این مهم اقرار داشتند و تفاوت غلظت حامل و محیط را دلیل درصد رهائش بیشتر در ساعات اولیه دانستند.

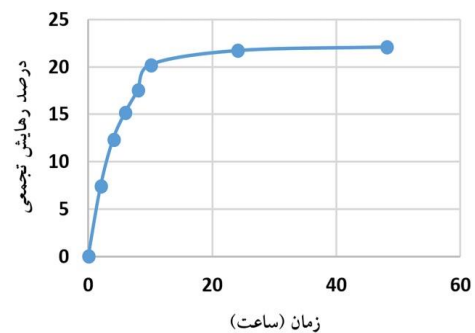
درباره‌ی افزایش درصد بارگذاری در مقایسه با افزایش نسبت چربی برای داروهای آب‌دوست و آب‌گریز مشاهده شده است (Haeri et al., 2014).

جدول ۳. درصد بارگذاری داروی کورکومین بر حسب میزان چربی به دارو (L/D) (EE = Encapsulation Efficiency %)

نسبت چربی به دارو (L/D)	درصد بارگذاری (%EE)
۱۰	۷۳/۳۴
۲۰	۹۱/۲
۴۰	۹۵

۳-۸- درصد رهائش تجمعی داروی کورکومین

نمودار شکل ۶ نشان‌دهنده‌ی درصد رهائش تجمعی داروی کورکومین است.



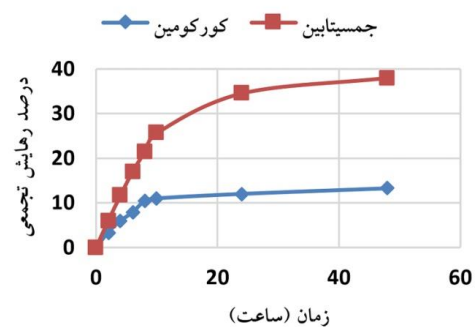
شکل ۶. نمودار درصد رهائش تجمعی داروی کورکومین

همان‌طور که مشاهده شد، پس از یک رهائش انفجاری (حدود ۲۰ درصد) در ۱۰ ساعت ابتدایی، رهائش آهسته‌تر شد. رهائش انفجاری در ساعات ابتدایی به‌دلیل تفاوت غلظت با محیط است و شامل مولکول‌های با اتصال ضعیف به سطح وزیکول یا دولایه‌ی لیپیدی است. کورکومین یک داروی آب‌گریز است و در غشای نیوزوم ذخیره می‌شود. به همین دلیل، رهائش کندتری دارد. حضور کلسترول در غشای نیوزوم عامل بسیار مهمی در این رهائش آهسته است. در واقع، کلسترول نه‌تنها درصد بارگذاری را بالا می‌برد، بلکه به‌دلیل پیوندی که با داروها برقرار می‌کند در کاهش سرعت رهائش نیز نقش دارد. در مطالعه‌ی با ذکر این نکته، رهائش آهسته‌ی دارو از سامانه‌ی نیوزومی را این‌گونه توجیه می‌کنند و نیز متذکر می‌شوند که نسبت سورفکتانت به کلسترول ۱:۱، علاوه بر بالاترین درصد بارگذاری، کندترین رهائش را دارد (Tavano et al., 2014). در مطالعه‌ی دیگری، علت رهائش آهسته‌ی داروی آب‌گریز را طبیعت این دارو دانستند و بیان کردند که داروی آب‌گریز با

۳-۱۰- درصد رهایش در بارگذاری هم‌زمان

با توجه به نمودار شکل ۸ داروی کورکومین رهایش آهسته‌تری از داروی جمسیتابین دارد و این موضوع به دلیل خاصیت آب‌گریزی این دارو است. به همین علت، در طول ۴۸ ساعت داروی جمسیتابین ۳۸ درصد رهایش یافته است، در صورتی که داروی کورکومین در همین مدت تنها ۱۳/۵ درصد آزاد شده است. نکته‌ی حائز اهمیت این است که زمان رهایش کورکومین باید بیشتر از رهایش جمسیتابین باشد؛ چراکه داروی جمسیتابین برای اثربخشی، طبق آنچه توضیح داده شد، به وجود داروی کورکومین نیازمند است (Pastorelli et al., 2018; Xu et al., 2014).

در تحقیقات دیگری، حمل هم‌زمان دو دارو را به چند دلیل برتر از رسانش تک‌دارویی دانستند. ابتدا اظهار داشتند حمل هم‌زمان دو دارو باعث افزایش زمان گردش در خون می‌شود. علاوه بر این، هماهنگی آزادسازی دو دارو باعث اثرگذاری مطلوب و بیشتری از حالت تک‌دارو است. حمل میزان بیشتری دارو در یک حامل نه‌تنها مقرون‌به‌صرفه است، بلکه سمیت حاصل از حامل را نیز کاهش می‌دهد (Tavano et al., 2013). داروی جمسیتابین به‌عنوان یک داروی آب‌دوست روی پوسته‌ی چربی حاوی داروی کورکومین را همچون یک لایه‌ی درشت مولکول^۱ هیدرولیکی می‌پوشاند و نقش مانع برای رهایش داروی آب‌گریز موجود در دولایه‌ی چربی را ایفا می‌کند. حذف این پوشش به‌مرور باعث در معرض قرار گرفتن داروی آب‌گریز و در نتیجه آزادسازی و انتشار هم‌زمان دو دارو در محیط لیزوزوم با pH= ۵ خواهد شد. رهایش هم‌زمان داروهای جمسیتابین و دوسه‌تاکسل (Docetaxel) را نیز فن و همکاران به همین شیوه توجیه کرده‌اند (Fan et al., 2017).



شکل ۸. نمودار رهایش داروها در بارگذاری هم‌زمان

۴- نتیجه‌گیری

اثر زمان فرایند فراصوت بر ریخت‌شناسی و اندازه‌ی ذرات بررسی شد و زمان ۲۴ دقیقه به‌عنوان زمان بهینه برای این مرحله انتخاب شد.

سپس، اثر افزایش درصد کلسترول بر میزان بارگذاری داروی کورکومین بررسی شد و، به دلیل خاصیت آب‌گریزی دارو، باعث افزایش بارگذاری شد. اما، علی‌رغم مطلوبیت افزایش انباشت دارو در نیوزوم، سمیت ناشی از محتوای سامانه قابل‌اغماض نیست؛ زیرا برای رساندن میزان برابر دارو به محتوای بیشتری از نیوزوم در مقایسه با دارو نیاز خواهد بود که این افزایش درصد بارگذاری، علاوه بر اینکه ارزش سمیت ناشی از اجزای سازنده‌ی سامانه را ندارد، مقرون‌به‌صرفه نیز نیست.

با توجه به اینکه هدف‌گیری مورد نظر در این سامانه از نوع غیرفعال است و نیازمند اندازه‌ی ذرات مناسب در محدوده‌ی ۱۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر است، ذرات با ابعاد ۲۹۶ نانومتر تهیه شدند که این میزان برای هدف‌گیری غیرفعال تومور مناسب است.

داروی جمسیتابین به دو صورت در نیوزوم ذخیره شد. مشاهده شد درصد بارگذاری این دارو در حالت بارگذاری به‌صورت آب‌دوست ۴۰ درصد و در حالت بارگذاری به‌صورت آب‌گریز ۶۴ درصد است. از طرفی، رهایش دارو در حالت اول با سرعت بیشتری انجام شد و در حالت دوم آهسته‌تر بود.

درصد بارگذاری داروها و روند رهایش آن‌ها نشان داد که درصد بارگذاری، در حالتی که هر دو دارو با هم در سامانه بارگذاری شوند، در مقایسه با زمانی که جداگانه هستند، میزان بالاتری را نشان می‌دهند. داروی کورکومین، به دلیل آب‌گریزی بالاتر از جمسیتابین، روند رهایش بسیار کندتری دارد، به‌صورتی که طی ۴۸ ساعت ۱۳/۲۵ درصد داروی کورکومین در مقابل ۳۸ درصد داروی جمسیتابین آزادسازی شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سیستم دارورسانی نیوزومی با بارگذاری هم‌زمان داروهای جمسیتابین و کورکومین به‌منظور کاربرد در شیمی‌درمانی سرطان مناسب است و می‌تواند اثر درمانی داروها را به‌واسطه‌ی کاربرد هم‌زمان آن‌ها افزایش دهد. پیشنهاد می‌شود، به‌منظور تکمیل نتایج، مطالعات سلولی و حیوانی انجام شود.

۵- سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت مالی پژوهشگاه مواد و انرژی در اجرای این پروژه پژوهشی دانشجویی مصوب معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی با کد ۷۸۱۴۰۱۰۵۱ تشکر و قدردانی می‌شود.

مراجع

14. Hemmati, K., Ahmadi Nasab, N., Hesaraki, S., & Nezafati, N. (2021). In vitro evaluation of curcumin-loaded chitosan-coated hydroxyapatite nanocarriers as a potential system for effective treatment of cancer. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 32(10), 1267-1287. <https://doi.org/10.1080/09205063.2021.1910920>
15. Hood, E., Gonzalez, M., Plaas, A., Strom, J., & VanAuker, M. (2007). Immuno-targeting of nonionic surfactant vesicles to inflammation. *International Journal of Pharmaceutics*, 339(1), 222-230. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.12.048>
16. Jyoti, K., Pandey, R. S., Madan, J., & Jain, U. (2016). Inhalable cationic niosomes of curcumin enhanced drug delivery and apoptosis in lung cancer cells. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 50, S21-S31. <https://archives.ijper.org/article/419>
17. Kassem, M. A., El-Sawy, H. S., Abd-Allah, F. I., Abdelghany, T. M., & El-Say, K. M. (2017). Maximizing the Therapeutic Efficacy of Imatinib Mesylate-Loaded Niosomes on Human Colon Adenocarcinoma Using Box-Behnken Design. *J Pharm Sci*, 106(1), 111-122. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.07.007>
18. Kheiri, H. (2014). Construction of Polyurethane Polymeric-based Nano-carriers for Curcumin in Cancer Therapy. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology*, 17, 25-39. <https://www.researchgate.net/publication/289193249>
19. Khoury, H., Deroussent, A., Reddy, L. H., Couvreur, P., Vassal, G., & Paci, A. (2007). Simultaneous determination of gemcitabine and gemcitabine-squalene by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in human plasma. *Journal of Chromatography B*, 858(1), 71-78. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.08.018>
20. Maniam, G., Mai, C. W., Zulkefeli, M., & Fu, J. Y. (2021). Co-encapsulation of Gemcitabine and Tocotrienols in Nanovesicles Enhanced Efficacy in Pancreatic Cancer. *Nanomedicine*, 16(5), 373-389. <https://doi.org/10.2217/nmm-2020-0374>
21. Mathew, D., & Hsu, W. L. (2018). Antiviral potential of curcumin. *Journal of Functional Foods*, 40, 692-699. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.017>
22. Monteith, K. M. M. A. K. M. (2018). Phosphate-buffered Saline (PBS). *protocols.io*. <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.p4rdqv6>
23. Parsian, M., Mutlu, P., Yalcin, S., Tezcaner, A., & Gunduz, U. (2016). Half generations magnetic PAMAM dendrimers as an effective system for targeted gemcitabine delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 515(1), 104-113. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.10.015>
24. Pastorelli, D., Fabricio, A., Giovanis, P., D'Ippolito, S., Fiduccia, P., Soldà, C., Buda, A., Sperti, C., Bardini, R., Da Dalt, G., Rainato, G., Gion, M., & Ursini, F. (2018). Phytosome complex of Curcumin as complementary therapy of advanced pancreatic cancer improves safety and efficacy of gemcitabine: Results of a prospective phase II trial. *Pharmacological Research*, 132. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.03.013>
25. Sharma, V., Anandhakumar, S., & Sasidharan, M. (2015). Self-degrading niosomes for encapsulation of hydrophilic and hydrophobic drugs: An efficient carrier for cancer multi-drug delivery. *Materials Science and Engineering: C*, 56, 393-400. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.06.049>
26. Song, H., Xiao, H., Zheng, M., Qi, R., Yan, L., & Jing, X. (2014). A biodegradable polymer platform for co-delivery of clinically relevant oxaliplatin and gemcitabine. *Journal of Materials Chemistry*. <https://doi.org/10.1039/C4TB00678J>
27. Tavano, L., Muzzalupo, R., Picci, N., & De Cindio, B. (2013). Co-encapsulation of lipophilic antioxidants into niosomal carriers: Percutaneous permeation studies for cosmetic applications. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 114C, 144-149. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.055>
28. Tavano, L., Aiello, R., Ioelle, G., Picci, N., & Muzzalupo, R. (2014). Niosomes from glucuronic acid-based surfactant as new carriers for cancer therapy: Preparation, characterization and biological properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 118, 7-13. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.03.016>
29. Thongpon, P., Intuyod, K., Pongking, T., Priprem, A., Chomwong, S., Tanasuka, P., Mahalapbutr, P., Suriya, U., Vaeteewoottacharn, K., Pinlaor, P., & Pinlaor, S. (2025). Curcumin-Loaded Maltodextrin-Based Proniosomes Potentially Effective against Gemcitabine-Resistant Cholangiocarcinoma. *ACS Applied Bio Materials*, 8(1), 913-930. <https://doi.org/10.1021/acsbam.4c01832>
1. Ali, S., Ahmad, A., Banerjee, S., Padhye, S., Dominiak, K., Schaffert, J. M., Wang, Z., Philip, P. A., & Sarkar, F. H. (2010). Gemcitabine sensitivity can be induced in pancreatic cancer cells through modulation of miR-200 and miR-21 expression by curcumin or its analogue CDF. *Cancer Res*, 70(9), 3606-3617. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.Can-09-4598>
2. Barani, M., Hajinezhad, M. R., Zargari, F., Shahraki, S., Davodabadi, F., Mirinejad, S., Sargazi, S., Rahdar, A., & Diez-Pascual, A. M. (2023). Preparation, characterization, cytotoxicity and pharmacokinetics of niosomes containing gemcitabine: In vitro, in vivo, and simulation studies. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 84, 104505. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104505>
3. Benita, S. E. (2005). Microencapsulation: Methods and Industrial Applications, Second Edition. *CRC Press*. <https://doi.org/10.1201/9781420027990>
4. Bisht, S., Feldmann, G., Soni, S., Ravi, R., Karikar, C., Maitra, A., & Maitra, A. (2007). Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 5(1), 3. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-5-3>
5. Castelli, F., Raudino, A., & Fresta, M. (2005). A mechanistic study of the permeation kinetics through biomembrane models: Gemcitabine-phospholipid bilayer interaction. *Journal of Colloid and Interface Science*, 285(1), 110-117. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.11.039>
6. Dora, C. P., Kushwah, V., Katiyar, S. S., Kumar, P., Pillay, V., Suresh, S., & Jain, S. (2017). Improved metabolic stability and therapeutic efficacy of a novel molecular gemcitabine phospholipid complex. *Int J Pharm*, 530(1-2), 113-127. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.07.060>
7. Fan, Y., Wang, Q., Lin, G., Shi, Y., Gu, Z., & Ding, T. (2017). Combination of using prodrug-modified cationic liposome nanocomplexes and a potentiating strategy via targeted co-delivery of gemcitabine and docetaxel for CD44-overexpressed triple negative breast cancer therapy. *Acta Biomaterialia*, 62, 257-272. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.08.034>
8. Farazi, R., Vaezi, M. R., Molaei, M. J., Saeidifar, M., & Behnam Ghader, A. A. (2017). Drug Loading and Release Behavior of Graphene Oxide/Magnetite Nanocomposite. *Journal of Advanced Material and Technologies*, 6(10), 33-41. [In Persian]. <https://doi.org/10.30501/jamt.2017.70353>
9. Giri, T. (2016). Bioavailability enhancement of curcumin nutraceutical through nano-delivery systems. In (pp. 593-625). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804305-9.00015-4>
10. Goje, A., Doijad, R. C., & Sompur, C. K. (2011). Design and characterization of long circulating lyophilized vesicular drug delivery system for antineoplastic agents. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2, 238-247. <https://www.ijpbs.net/abstract.php?article=ODU0>
11. Gugleva, V., Michailova, V., Mihaylova, R., Momekov, G., Zaharieva, M. M., Najdenski, H., Petrov, P., Rangelov, S., Forsys, A., Trzebicka, B., & Momekova, D. (2022). Formulation and Evaluation of Hybrid Niosomal In Situ Gel for Intravesical Co-Delivery of Curcumin and Gentamicin Sulfate. *Pharmaceutics*, 14(4). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040747>
12. Haeri, A., Alinaghian, B., Daeihamed, M., & Dadashzadeh, S. (2014). Preparation and characterization of stable nanoliposomal formulation of fluoxetine as a potential adjuvant therapy for drug-resistant tumors. *Iran J Pharm Res*, 13(Suppl), 3-14. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24711824/>
13. Hariharan, D., Saied, A., & Kocher, H. M. (2008). Analysis of mortality rates for pancreatic cancer across the world. *HPB (Oxford)*, 10(1), 58-62. <https://doi.org/10.1080/13651820701883148>

30. van Kan-Davelaar, H. E., van Hest, J. C. M., Cornelissen, J. J. L. M., & Koay, M. S. T. (2014). Using viruses as nanomedicines. *British journal of pharmacology*, 171(17), 9. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4243974/>
31. Wissing, S. A., Kayser, O., & Müller, R. H. (2004). Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 56(9), 1257-1272. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.12.002>
32. Xu, H., Paxton, J., Lim, J., Li, Y., & Wu, Z. (2014). Development of a gradient high performance liquid chromatography assay for simultaneous analysis of hydrophilic gemcitabine and lipophilic curcumin using a central composite design and its application in liposome development. *J Pharm Biomed Anal*, 98, 371-378. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.06.022>
33. Yang, H., Deng, A., Zhang, J., Wang, J., & Lu, B. (2012). Preparation, characterization and anticancer therapeutic efficacy of cisplatin-loaded niosomes. *Journal of microencapsulation*, 30. <https://doi.org/10.3109/02652048.2012.717116>
34. Yang, W., Hu, Q., Xu, Y., Liu, H., & Zhong, L. (2018). Antibody fragment-conjugated gemcitabine and paclitaxel-based liposome for effective therapeutic efficacy in pancreatic cancer. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 89, 328-335. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.011>