

استفاده از روش منحنی سطح پاسخ و مقایسه آن با مدلسازی سخت در بهینه

سازی فرآیند رهایش داروی کورکومین

بهناز عبدوس^۱، سیده مریم سجادی^{۱*} و لیلا مآمنی^۲

^۱ دانشکده شیمی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

^۲ بخش نانو تکنولوژی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۱۲

تاریخ تصحیح: ۹۵/۰۳/۰۴

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۱/۱۲

چکیده

رهایش کنترل شده ی دارو فرایندی است که در آن یک حامل به طور حساب شده‌ای با دارو ترکیب می شود تا عامل فعال دارو در بدن به شکلی از پیش تعیین شده و دلخواه از این ماده رها شود، لذا بهینه سازی رهایش دارو از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد. در مطالعه حاضر، رهایش داروی کورکومین بر اساس دو روش آماری که عبارتند از منحنی سطح پاسخ و روش مدل سازی چند متغیره سخت بررسی می شود و سپس نتایج بهینه رهایش دارو حاصل از هر دو روش با هم مقایسه می گردد و نشان داده می شود که گرچه مدل به دست آمده از سطح پاسخ به صورت تجربی می باشد اما به دلیل در نظر گرفتن اثر فاکتورها به طور همزمان قادر است مقدار رهایش دارو را در مقادیری از فاکتورهای موثر که اندازه گیری آنها انجام نشده است نیز پیش بینی کند. علاوه بر این امکان محاسبه اثر هر فاکتور و بررسی توانهای بالاتر در فرایند رهایش را دارد.

واژگان کلیدی: طراحی آزمایش، مدل سطح پاسخ، نانو دارو رسان، بهینه سازی رهایش دارو

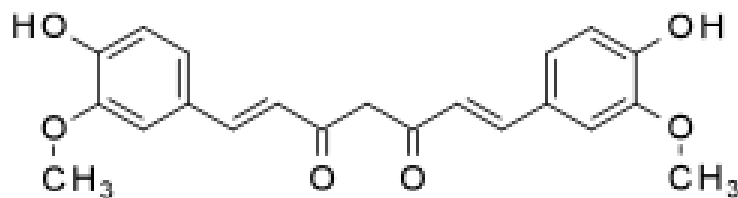
۱- مقدمه

آنچه از شنیدن نام دارو برای اولین بار به ذهن می رسد شاید چیزی فراتر از قرص، کپسول و یا آمپول نباشد. در حالیکه دنیای دارو و روش‌های انتقال آن به بدن به این ترتیب خلاصه نمی گردد. بطور معمول داروها از دو طریق گوارشی (ورود از طریق دهان و جذب به سمت خون در طول لوله گوارشی) و غیر گوارشی (تزریق، قطره‌های چشمی و...) وارد بدن می شوند. ورود دارو از این روش‌ها مسائل و محدودیت‌هایی را به همراه دارد و به همین دلیل محققان در جستجوی راه‌هایی بودند که بتواند مشکلات فوق را تا حد زیادی برطرف کند. در راستای این تلاش‌ها سیستم‌های رهایش کنترل شده دارو مطرح شد که دارای مزایای زیادی است. مهم ترین این مزایا شامل قابلیت حمل دوزهای موثری از دارو به سلول های بافت هدف، توانایی حفظ غلظت دارو در حدی نسبتاً ثابت برای مدتی معین، توانایی تنظیم سرعت آزاد شدن دارو وابسته به محل دارورسانی، امکان رساندن دارو به یک عضو یا بافت خاص، قابلیت رساندن چندین ماده دارویی با یک فرمولاسیون، امکان دارورسانی در ابعاد نانومتری و ... این

سیستم‌ها تحولی را در زمینه درمان بسیاری از بیماری‌ها ایجاد نموده و در حال پیشرفت روز افزون است. رهایش کنترل شده دارو فرایندی است که در آن یک حامل پلیمری (مانند: لیپوزوم و نیوزوم)، سرامیکی و یا فلزی به طور حساب شده‌ای با دارو یا عامل فعال ترکیب شود تا عامل فعال در بدن به شکلی از پیش تعیین شده و دلخواه از این ماده رها شود [۱].

در فرایندهای درمان بیماران، سطح درمانی دارو باید در بیمار به اندازه‌ای باشد که تا زمان مصرف بعدی دارو، نیاز بیمار را برطرف کند. اما متأسفانه مشاهده می‌شود که کاهش یا افزایش بی‌رویه‌ی سطح دارو در بدن، تأثیر گذاری آنرا تحت شعاع قرار می‌دهد. در واقع بعد از وارد شدن ناگهانی دارو به بدن، در این حالات مقدار دارو در سیستم گردش خون یا محل تزریق افزایش می‌یابد که این امر خود می‌تواند در بعضی داروهای سمی ایجاد سمیت کند. به این دلیل، تکنولوژی‌های رهایش آهسته و کنترل شده دارو با هدف کنترل سرعت رهایش دارو و هدفمند شدن رهایش دارو به سمت یک بافت یا محل خاص مطرح گردید. البته استفاده از این سیستم‌ها محدودیت‌هایی نیز ایجاد میکند که ممکن است شامل پیدایش مسمومیت‌های جدید در اثر بکارگیری مواد تازه در بدن همراه با داروها، تأخیر در پراکنده شدن دارو و نیاز به آزمایش‌های جدید برای بررسی حامل دارویی است. بنابراین رهایش دارو و بهینه سازی این فرآیند از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

کورکومین یک پلی فنل از دسته دی آریل هپتانوئیدها می باشد که این ماده جزء فعال گیاه پایاست و با نام زردچوبه شناخته می‌شود. ساختار کورکومین در شکل ۱ نشان داده شده است. این گیاه در هندوستان، جنوب شرق آسیا، چین و مناطق گرمسیر آسیا کشت داده می‌شود. مطالعات گسترده در نیم قرن گذشته چندین اثر مهم از کورکومین را نشان داده است. بطور کلی مهم‌ترین اثرات بیولوژیکی زردچوبه و کورکومین شامل اثرات ضدالتهابی، ضدتوموری و آنتی اکسیدانی آن است.



شکل ۱) ساختار کورکومین

در مطالعه حاضر، مدل رهایش دارو کورکومین بارگذاری شده بر روی نانوداروسان مزو حفره سیلیکایی توسط روشهای منحنی سطح پاسخ [۲] و مدلسازی سخت چند متغییره تعیین می گردد. از مدلهای به دست آمده برای تعیین مقدار شرایط بهینه رهایش دارو استفاده می شود. نیچ دو روش مقایسه می گردد. بر اساس دانش ما، تاکنون گزارشی به منظور بهینه سازی فرآیند

رهایش دارو بر اساس مطالعه رفتار سینتیکی و تعیین پارامترهای آن وجود ندارد و معمولاً از روش بررسی یک فاکتور در هر زمان^۱ استفاده شده است که وقتی دارو به سطح معین و ثابتی رسید مقدار بهینه تعیین می گردد. [۳]

در مطالعات قبلی [۴، ۵ و ۶] رهایش کورکومین توسط روش های طراحی آزمایش گزارش شده است اما با نانوذره مزوحفره سیلیکا که ما در این مطالعه استفاده کرده ایم بررسی صورت نگرفته است و به علاوه در روش های قبلی از باکس بنکن و فاکتوریال استفاده شده که ارتباط بین پاسخ و فاکتورها بر اساس معادله درجه دو بیان می شد اما در مطالعه حاضر با انجام طراحی آزمایش فاکتوریال در ۴ سطح نشان داده می شود که این سیستم بر اساس معادله درجه سوم توصیف می شود.

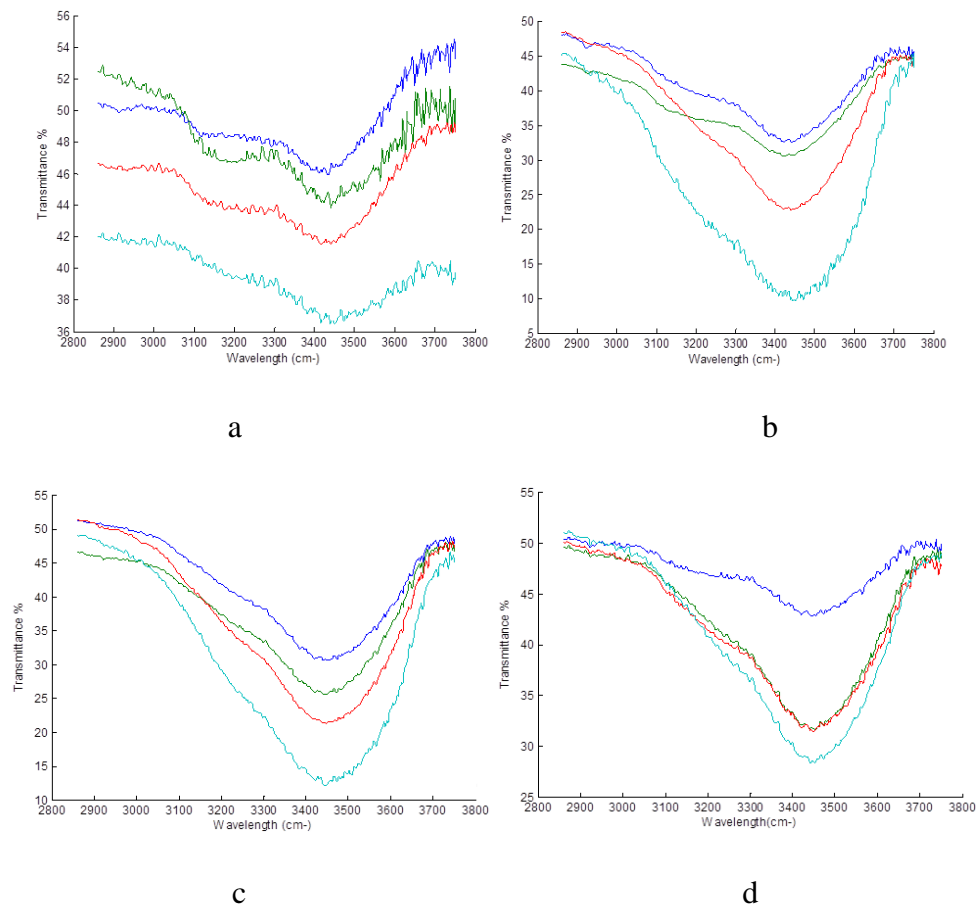
۲- روش کار و دستگاه

پروفایل آزمایشگاهی رهایش دارو بدین صورت بدست خواهد آمد: ۰,۰۵ گرم از کورکومین بارگذاری شده در یک کیسه دیالیز ریخته شد و در ۵۰۰ میلی لیتر محلول بافر با pH=۱,۲، ۴,۲، ۵,۸، ۷,۴ قرار داده شد. آزمون رهایش در ۳۷ درجه سانتی گراد با استفاده از حمام آب مرتعش، انجام شد. نمونه برداری در ۱۰، ۲۴، ۳۶ و ۷۲ ساعت انجام شد و در هر زمان طیف FT-IR با استفاده از دستگاه تنسور ۲۵ (کمپانی بروکر، آلمان) ثبت گردید. در هر نمونه گیری حدود ۱,۵ میلی لیتر از محلول برای طیف گیری استفاده شد. با توجه به اینکه حجم محلولی که برای فرایند رهایش بررسی می شود ۵۰۰ میلی لیتر است می توان از تغییرات حجم محلول صرف نظر کرد.

¹ One at a time

۳- داده های FT-IR به دست آمده در pH و زمانهای مختلف و پیش پردازش آنها

در بررسی رهایش دارو، در چهار pH و در چهار زمان داده FT-IR ثبت گردید که در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱) داده های FT-IR در زمانهای مختلف رهایش دارو در (a) pH=4.2 و (b) pH=1.2 و (c) pH=5.8 و (d) pH=7.4

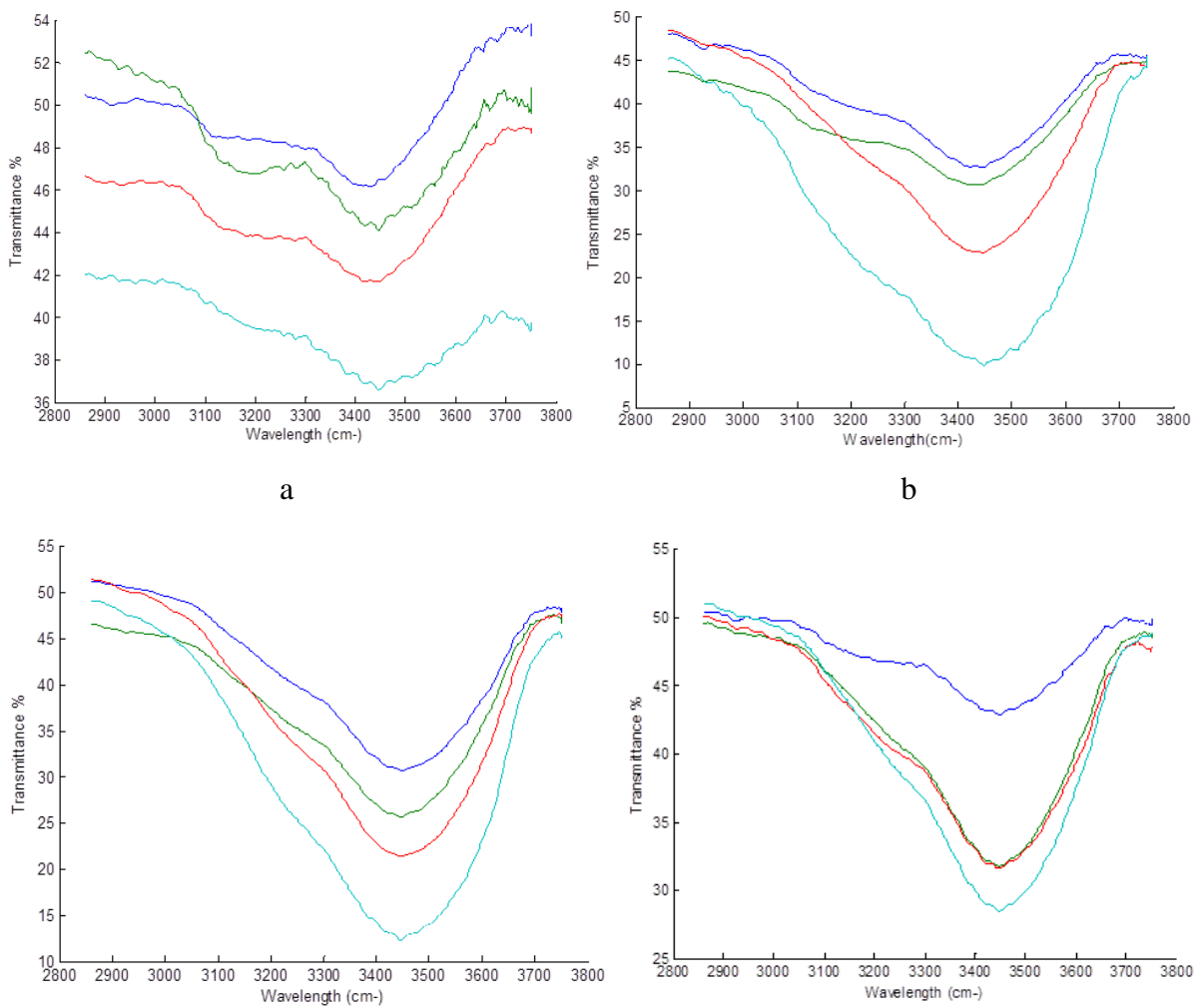
همانطور که در شکل های بالا مشاهده می شود طیف های IR نویزی هستند و نیاز به هموار شدن^۱ دارند. برای داده های نویزی روش های مختلف کاهش نویز نظیر ساویتسکی گلی^۲ [۷] کالمن فیلترینگ^۳ [۸] و میانگین متحرک^۴ [۹] وجود دارد. در این کار از روش میانگین متحرک [۱۰] برای حذف نویز داده ها استفاده شد که برنامه آن در محیط Matlab نوشته شد و نتایج حاصل از آن در شکل ۲ نشان داده شده است.

^۱ Smoothing

^۲ Savitzky-golay

^۳ Kalman Filtering

^۴ Moving average



شکل ۲) داده های هموار شده FT-IR در زمانهای مختلف رهایش دارو در (a و pH=4.2 (b و pH=1.2 (c و pH=5.8 (d و pH=7.4

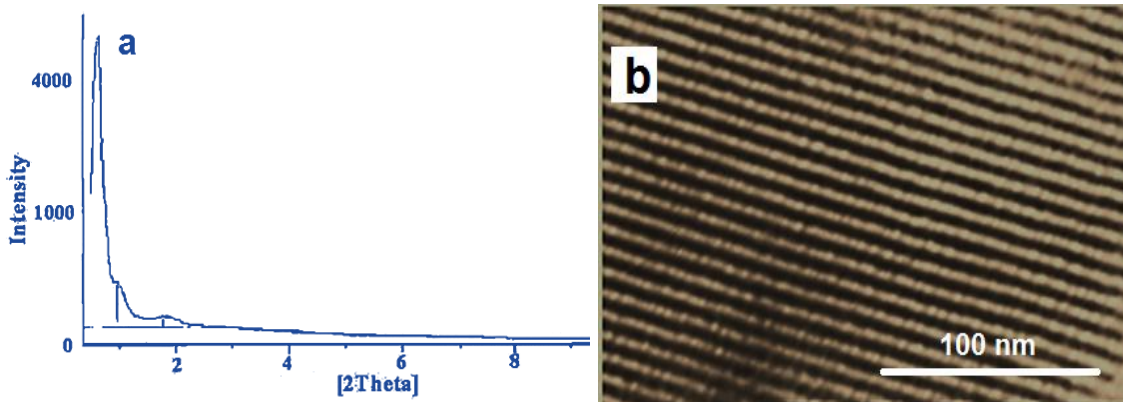
۴- بهینه سازی رهایش دارو بر اساس طراحی آزمایش

در ابتدا نانوذرات مزوحفره سیلیکایی سنتز شده و توسط تکنیکهای میکروسکوپ الکترونی عبوری^۱ (TEM) و پراش اشعه ایکس^۲ (XRD) مورد تأیید قرار گرفت و سپس بعنوان یک سیستم تحویل داروی کارآمد و قابل اعتماد مورد بررسی قرار گرفت تصویر TEM و XRD این نانو سامانه دارو رسانی در شکل ۲ نشان داده شده است. سپس داروی کورکومین روی سطح نانوذرات بارگذاری شده و پس از چند بار شستشو در خلا خشک شده و برای انجام تستهای آنالیز و ارزیابی اثربخشی آماده گردید. موفقیت بارگذاری با استفاده از طیف FTIR بارگذاری دارو مورد تأیید قرار گرفت. ناحیه طول موجی 2200 cm^{-1} -

¹Transmission electron microscopy(TEM)

² X-Ray Powder Diffraction (XRD)

۱۷۰۰ برای محلول بارگذاری شده پیک جدیدی نسبت به کورکومین خالص [۱۱] مشاهده می شود که این بارگذاری دارو را بر روی نانوذره تأیید می نماید.



شکل ۲) a تصویر TEM و XRD نانوسامانه مورد بررسی

در بهینه سازی رهایش داروی کورکومین بارگذاری شده بر روی نانوذرات مزو حفره سیلیکایی دو فاکتور زمان و pH از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشند که در اینجا به منظور ارزیابی بر همکنش های این دو متغیر روش طراحی آزمایش با در نظر گرفتن هر فاکتور در چهار سطح استفاده شد. شرایط pH و زمانی که در آن طیف رهایش دارو ثبت گردید به عنوان ماتریس طراحی و مینیمم طول موج طیف عبوری متناظر با هر شرایط به عنوان سیگنال استفاده شد که در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول (۱) فاکتورها و نتایج تجربی

شماره آزمایش	زمان (h)		پاسخ
	فاکتور B	فاکتور A	
۱	۱۰	۱,۲	۳۲,۷۲
۲	۲۴	۱,۲	۳۰,۷۱
۳	۳۶	۱,۲	۲۲,۹۰
۴	۷۲	۱,۲	۱۰,۲۴
۵	۱۰	۴,۲	۴۶,۲۶
۶	۱۲	۴,۲	۴۴,۳۲
۷	۱۸	۴,۲	۴۱,۶۵
۸	۷۲	۴,۲	۳۶,۷۶
۹	۴	۵,۸	۳۰,۸۴

ادامه جدول ۱

۲۵,۷۸	۵,۸	۶	۱۰
۲۱,۵۳	۵,۸	۱۸	۱۱
۱۲,۶۵	۵,۸	۲۴	۱۲
۴۳,۰۲	۷,۴	۸	۱۳
۳۱,۹۰	۷,۴	۱۸	۱۴
۳۱,۸۰	۷,۴	۲۴	۱۵
۲۸,۶۵	۷,۴	۷۲	۱۶

در اینجا ارتباط بین دو متغیر pH و زمان با استفاده از چند جمله ای مرتبه سه بر مبنای منحنی سطح پاسخ تعیین گردید.

معادله زیر در قالب فاکتورهای کد گذاری شده برای توضیح رابطه بین پاسخ آزمایش و فاکتورها به شکل زیر می باشد:

$$\text{Response} = 38.76 - 52.82 \times A + 3.25 \times AB - 9.95 \times A^2 + 57.85 A^3 - 8.59 \times B^3$$

منظور از ضریب A , AB , A^2 , A^3 , B^3 ، به ترتیب اثر فاکتور pH، بر همکنش بین فاکتور زمان و pH، توان دوم pH، توان منطور از ضریب سوم pH و توان سوم زمان می باشد. بر اساس جدول ۲ مقادیر p-value برای ضرایب به جز AB بسیار کمتر از ۰,۰۵ می باشد که این معنی دار بودن ضرایب را نشان می دهد. بر اساس معادله فوق هر چه ضریب فاکتوری بزرگتر باشد اثر آن فاکتور بیشتر می باشد که در نتیجه ترتیب اثر فاکتورها به صورت زیر می باشد:

$$A^3 > AB > B^3 > A^2 > A$$

۴-۱- بررسی اعتبار آماری مدل پیشنهادی رهایش دارو بر مبنای سطح پاسخ

روش آنالیز واریانس^۱ به منظور بررسی کفایت مدل به کار برده شده و تایید معنی دار بودن فاکتورها به کار برده می شود به طور کلی با توجه به جدول آنالیز واریانس می توان به اعتبار مدل پیشنهادی پی برد. [۲] نتایج حاصل از ANOVA مدل تعیین شده معادله فوق در جدول ۲ گزارش شده است و با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ مقدار p-value مدل که خیلی کمتر از ۰,۰۵ می باشد، معنی داری مدل تایید را تایید می کند.

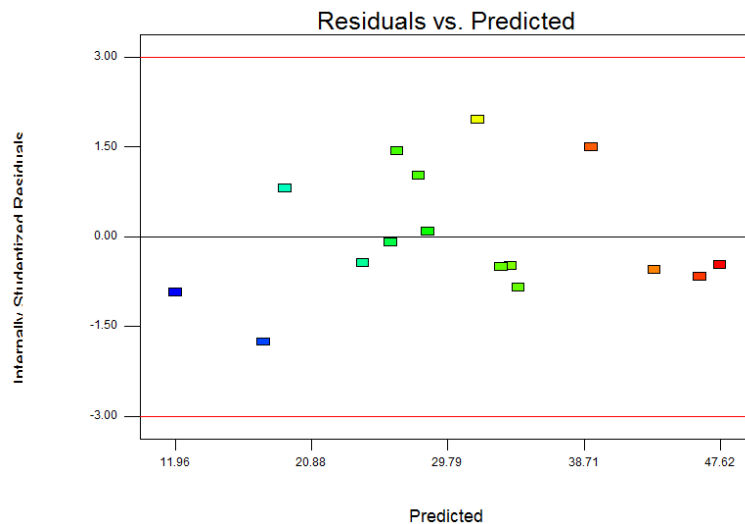
¹ ANOVA

جدول ۲) آنالیز واریانس

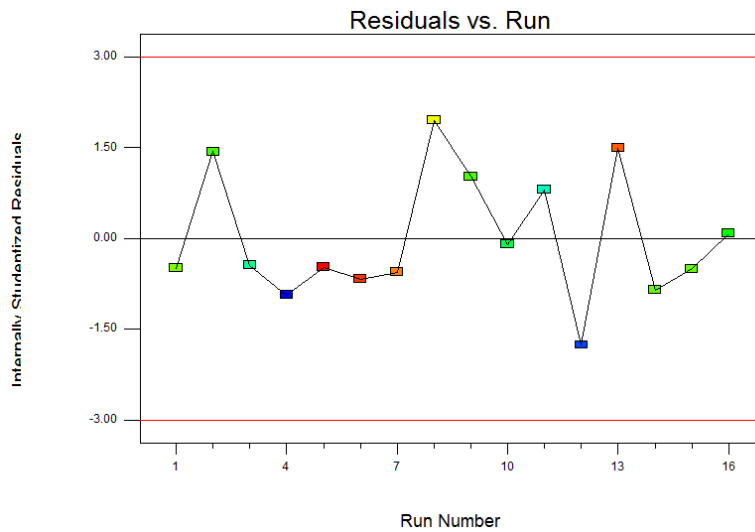
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F- Value	p-value Prob > F	
Model	1540.15	5	308.03	25.48	<0.0001	significant
A- A	908.79	1	908.79	75.17	<0.0001	
A-B	47.01	1	47.01	3.89	0.0769	
A ^۲	275.51	1	275.51	22.79	0.0008	
A ^۳	1055.33	1	1055.33	87.29	<0.0001	
B ^۳	515.85	1	515.85	42.67	<0.0001	
Residual	120.90	10	12.09			
Cor Total	1661.05	15				

ضرایب تعیین کننده R^2 و R^2_{adj} شاخص های مناسبی جهت کیفیت برازش را می باشند که در این آنالیز، R^2 برابر ۰,۹۲۷۲، ضریب رگرسیون تنظیم $(R^2_{adj} = ۰,۸۹۰۸)$ ، R^2_{pred} برابر با ۰,۷۹۹۷ می باشد مقادیر نسبتا بالای این پارامترها توانایی پیش بینی مدل را نشان می دهند.

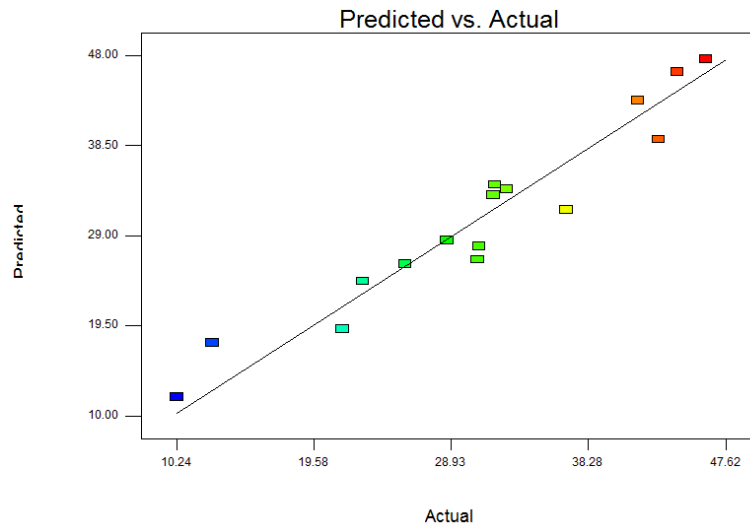
البته برای اطمینان از مدل پیشنهادی می توان از آزمونهایی نظیر: آزمون معنی داری رگرسیون، آزمون فقدان تطبیق، بکارگیری نقاط آزمایشی برای کشف فقدان تطبیق یافتگی، فاصله اطمینان و معنی داری ضرایب، منطقه اطمینان مشترک بر روی ضرایب رگرسیون، منطقه معنی داری پاسخ، پیش گویی پاسخ نقاط آزمایشی جدید، ضرایب R^2 و R^2_{adj} و آنالیز باقی مانده ها نیز استفاده کرد. ابتدا این آزمونهای آماری به کار برده شده است و سپس همانطور که نمودارهای ۳ تا ۶ نیز نشان می دهند همگی اعتبار مدل را اثبات می کنند.



شکل ۳) نمودار باقیمانده ها در برابر پاسخ پیش بینی شده



شکل ۴) نمودار باقیمانده ها در برابر شماره آزمایش



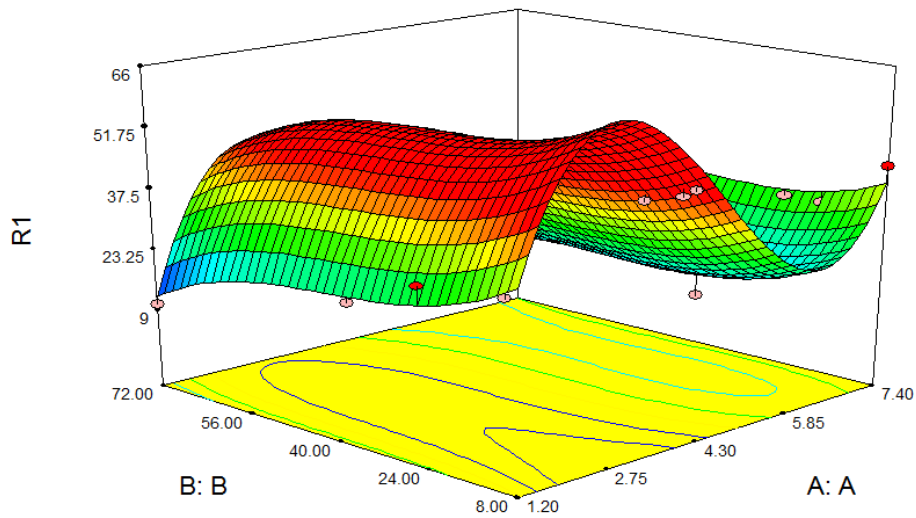
شکل ۵) نمودار مقادیر پیش بینی شده در برابر مقادیر واقعی

۴-۲- روش سطح پاسخ و تعیین مقدار بهینه رهایش دارو

از آنجایی که با استفاده از طیف IR مقدار عبور بدست می آید، هنگامیکه عبور زیاد است، مقدار جذب کم بوده در نتیجه در تعیین شرایط بهینه، در مقداری از فاکتورها که مینیمم عبور مشاهده می گردد معادل بیشترین مقدار کورکومین آزاد شده می باشد و بنابراین در اینجا هدف مینیمم کردن سطح پاسخ می باشد. براساس نتایج حاصل از مرحله رهایش دارو مقدار بهینه pH، ۶٫۲۵ و زمان ۷۱ ساعت و ده دقیقه بود، شرایط بهینه تعیین گردید.

بر اساس معادله ذکر شده برای مقادیر متعدد pH و زمان در محدوده طراحی، مقدار رهایش پیش بینی شد و بر حسب pH و زمان رسم گردید که در شکل ۶ نشان داده شده است. این شکل را به اصطلاح منحنی سطح پاسخ می نامند و همانطور که واضح است پاسخ نسبت به pH و زمان حالت منحنی دارد که نشان دهنده غیر خطی بودن ارتباط بین پاسخ و فاکتورها و همچنین

وجود بر همکنش بین فاکتورها می باشد. این منحنی بیانگر این است که امکان تعیین صحیح بهینه توسط روش بهینه سازی یک فاکتور در یک زمان امکانپذیر نمی باشد لزوم استفاده از روش طراحی آزمایش را نشان می دهد.

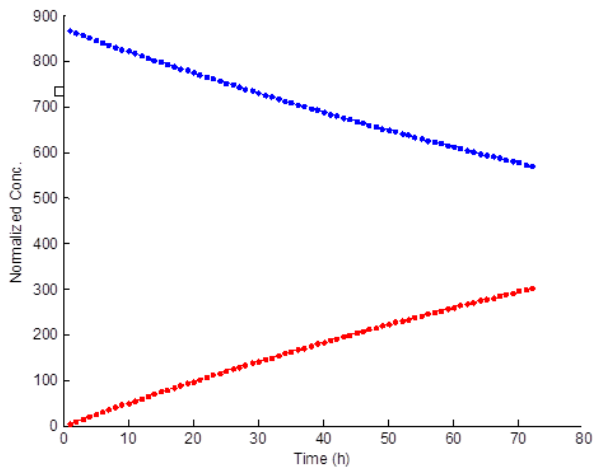


شکل ۶) نمودار سه بعدی پاسخ همراه با سطح کانتور در رهائش دارو

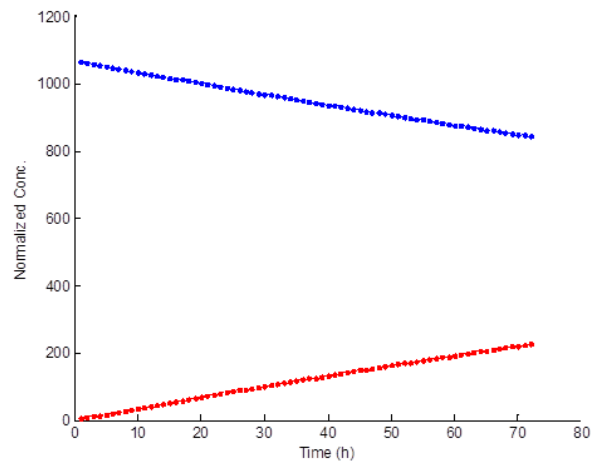
۳-۲- تعیین ثابت سرعت دارو در pH های مختلف بر اساس روش مدل سازی سخت

نظیر آنچه در مطالعه قبلی ارائه گردید [۱۰]، بر اساس مکانیسم سینتیکی مرتبه اول و با استفاده از روش کمومتریکسی چند متغیره مدل سازی سخت، ثابت سینتیک رهائش دارو در هر pH محاسبه شد. در مطالعه حاضر، از این روش برای تعیین مدل سینتیکی در pH های مختلف بعنوان فاکتور تاثیر گذار در رهائش داروی کورکومین استفاده شده است.

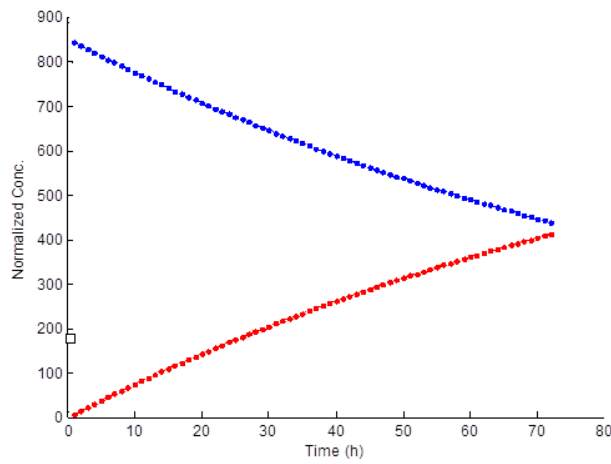
ابتدا در هر pH به منظور پردازش و آنالیز داده توسط نرم افزار Matlab ابتدا طیف های مربوط به زمان های مختلف در یک ماتریس با ابعاد (۴×۴۶۲) مرتب شدند که ۴ تعداد زمان و ۴۶۲ تعداد طول موج می باشند. سپس داده ها با استفاده از روش مدل سازی سخت آنالیز گردید که. پروفایل های غلظتی نانوذره و داروی رها شده بر حسب زمان در شکل ۷ نشان داده شده اند. این شکل نشان می دهد که در زمان ۷۲ ساعت و pH ۵,۸ بیشترین میزان رهائش انجام می شود.



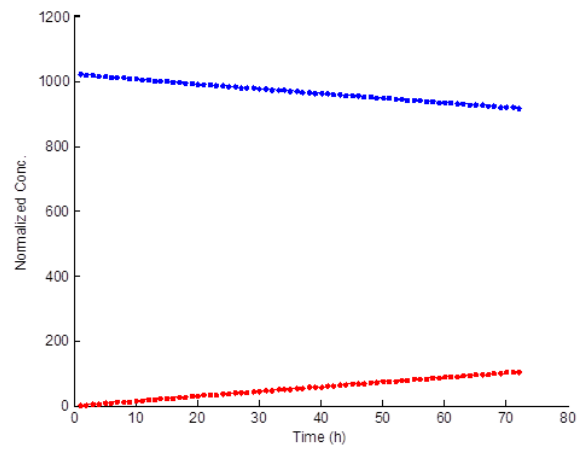
a



b



c



d

شکل ۷) پروفایل غلظتی مربوط به کورکومین (نمودار پایین) و کمپکس دارو-نانوسیلیکا (نمودار بالا) در سیستم رهایش دارو در (a ، pH=1.2 ، b) ، pH=4.2 (c ، pH=5.8 و d) ، pH=7.4

ثابت سینتیک محاسبه شده در pH های مختلف همراه با عدم قطعیت آن در جدول زیر ارائه گردیده است.

جدول ۳) ثابت سینتیک و انحراف استانداردهای محاسبه شده در pH های مختلف

pH	Kinetic Constant (h^{-1})	standard deviation
1.2	0.0059	2.5×10^{-5}
4.2	0.0033	2.5×10^{-5}
5.8	0.0092	1.2×10^{-4}
7.4	0.0015	3.7×10^{-5}

۵- نتیجه گیری

این دو روش از دو جهت قابل مقایسه و بررسی است :

- ❖ در طراحی آزمایش، بر اساس یک معادله تجربی بهینه سازی انجام می شود. مزیت این روش این است که امکان محاسبه رهايش در نقاطی که آزمایش انجام نشده نیز وجود دارد و اثر هر فاکتور و برهمکنش های بین متغیرها نیز تعیین می شود.
- ❖ در روش مدل سازی سینتیکی، ثابت سینتیک تعیین می گردد در حالیکه در طراحی آزمایش چنین امکانی وجود ندارد. در واقع مدل سازی سینتیکی رفتار شیمیایی سیستم را به تصویر می کشد.
- ❖ در روش مدل سازی سینتیکی علاوه بر اینکه مقدار بهینه بر اساس پروفایل ها تعیین گردید، به دلیل تعیین ثابت سینتیک امکان محاسبه تغییرات غلظت کورکومین آزاد شده در زمانهایی که داده های آن جمع آوری نشده است نیز قابل پیش بینی می باشد.
- ❖ از آنجا که تعیین شرایط بهینه به هر مقدار دو فاکتور بستگی دارد استفاده از روش طراحی آزمایش نسبت به مدل سینتیکی بهتر است به این دلیل که قدرت پیشبینی پاسخ در هر مقادیر مختلف دو فاکتور را دارد در حالی که در مدل سازی سخت فاکتور pH شبیه بهینه سازی روش یک فاکتور در یک زمان بهینه گردید .

تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت های مالی دانشگاه سمنان برای انجام پروژه تشکر و قدر دانی می نماید.

۶- مراجع

- [1] I. I. Slowing, J. L. Vivero-Escoto, C.-W. Wu, V. S. Y. Lin, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **60** (2008) 1278-1288.
- [2] *Comprehensive Chemometrics Chemical and Biochemical Data Analyses*, vol. 1 (2009) chapter 12.
- [3] Y. Ding, S.Z. Shen, H. Sun, K. Sun, F. Liu, Y. Qi, J. Yan, Design and construction of polymerized-chitosan coated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles and its application for hydrophobic drug delivery, *Materials Science and Engineering: C*, **48** (2015) 487-498.
- [4] Akl MA, Kartal-Hodzic A, Oksanen T, Ismael HR, Afouna MM, Yliperttula M, et al. Factorial design formulation optimization and in vitro characterization of curcumin-loaded PLGA nanoparticles for colon delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2016;32, Part A:10-20.
- [5] Arya P, Pathak K. Assessing the viability of microsponges as gastro retentive drug delivery system of curcumin: Optimization and pharmacokinetics. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;460(1-2):1-12.
- [6] Sood S, Jain K, Gowthamarajan K. Optimization of curcumin nanoemulsion for intranasal delivery using design of experiment and its toxicity assessment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2014;113:330-7.

[7] S. M. Wolfrum and N. J. A. Van Veen, Savitzky-Golay filtering in particle characterization, *Journal of Chemometrics*, 2 (3) (1988) 203–209.

[8] H. C. Smit, the Use of Kalman Filtering and Correlation Techniques in Analytical Calibration Procedures, *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 90 (6) (1985) 441-450.

[9] P. Gemperline, *Practical Guide to Chemometrics*, 2006, Second Edition.

[۱۰] ب. عبدوس، س. م. سجادی و ل. مامنی، بررسی سینتیکی رهایش دارو در سیستم های نانو دارورسان با استفاده از روش مدل سازی سخت چند متغیره، *مجله علمی - پژوهشی شیمی کاربردی*، سال دهم، شماره ۳۵ تابستان ۱۳۹۴.

[11] L. Ma'mani, S. Nikzad, H. Kheiri-manjili, S. al-Musawi, M. Saeedi, S. Askarlou, A. Foroumadi, A. Shafiee, Curcumin-loaded guanidine functionalized PEGylated I3ad mesoporous silica nanoparticles KIT-6: Practical strategy for the breast cancer therapy, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 83 (2014) 646-654.

