

# Drug Conjugated PAMAM Dendrimers: Synthesis and Molecular Dynamics Simulation

Sepideh Amjad Iranogh<sup>1</sup>, Sepideh Khoee<sup>\*2</sup>, and Hamid Modarres<sup>3</sup>

1. Chemistry Department, Amirkabir University of Technology, P.O. Box: 15875- 4413,  
Tehran, Iran

2. Faculty of Science, Department of Chemistry, Tehran University,  
P.O. Box: 14155-6455, Tehran, Iran

3- Faculty of Chemical Engineering, Amirkabir University of Technology,  
P.O. Box: 15875- 4413, Tehran, Iran

Received: 31 August 2013, Accepted: 16 April 2014

## Abstract

Dendrimers are a relatively new class of materials with unique molecular architectures and dimensions in comparison to linear polymers. Dendritic macromolecules containing several types of functional groups can be successfully synthesized through divergent or convergent method. The functional surface groups make them very hydrophilic and highly water soluble. Dendrimer diameters increase with generations in increments of up to 1 nm per generation, while molecular weight and number of functional surface groups increase exponentially. An ideal dendritic drug-carrier must be non-toxic, non-immunogenic, and preferably biodegradable and present an adequate biodistribution. This review investigates recent advances in the application of drug-conjugated PAMAM dendrimers in drug delivery and finally, molecular dynamics simulations of PAMAM structures and their properties are discussed.

## Key Words

PAMAM,  
drug delivery,  
anti cancer drugs,  
molecular dynamics simulation,  
drug-dendrimer conjugate

(\*) To whom correspondence should be addressed.  
E-mail: khoee@khayam.ut.ac.ir

## مطالعه درختواره‌های پلی‌آمیدوآمین مزدوج شده با دارو: سنتز و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

سپیده امجد ايراني<sup>۱</sup>، سپیده خوئی<sup>۲\*</sup>، حمید مدرس<sup>۳</sup>

۱- تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، گروه مستقل شیمی، صندوق پستی ۴۴۱۳-۱۵۸۷۵

۲- تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده شیمی، گروه شیمی پلیمر، صندوق پستی ۶۴۵۵-۱۴۱۵۵

۳- تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی شیمی، صندوق پستی ۴۴۱۳-۱۵۸۷۵

دریافت: ۱۳۹۲/۶/۹، پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۲۷

درختواره‌ها طبقه نسبتاً جدیدی از مواداند که دارای ساختار مولکولی و ابعاد واحد در مقایسه با پلیمرهای خطی هستند. درشت‌مولکول‌های درختواره می‌توانند شامل چند نوع گروه عاملی باشند که به‌طور موفقیت‌آمیز با روش‌های واگرا یا همگرا سنتز می‌شوند. گروه‌های عاملی موجود در سطح آنها باعث می‌شود تا این ترکیبات آبدوست شده و در آب بسیار محلول باشند. قطر درختواره با افزایش نسل تا یک نانومتر افزایش می‌یابد، در حالی که وزن مولکولی و تعداد گروه‌های عاملی موجود در سطح درختواره به‌طور توانی رشد می‌کند. یک درختواره حامل داروی ایده‌آل باید غیرسمی، غیرپادژن و ترجیحاً زیست‌تخریب‌پذیر باشد. در ضمن، توزیع زیستی مناسب هم داشته باشد. در این مقاله، به پیشرفت‌های اخیر در باره کاربرد درختواره پلی‌آمیدوآمین (PAMAM) در انتقال دارو پرداخته می‌شود. در انتها، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی ساختارهای درختواره PAMAM و ویژگی‌های آنها نیز بحث می‌شود.

بسیار ش

فصلنامه علمی-ترویجی

سال چهارم، شماره ۱،

صفحه ۳۱-۱۶، ۱۳۹۳

ISSN: 2252-0449

### چکیده



سپیده امجد ايراني



سپیده خوئی



حمید مدرس

### واژگان کلیدی

پلی‌آمیدوآمین،  
انتقال دارو،  
داروهای ضدسرطان،  
شبیه‌سازی دینامیک مولکولی،  
مزدوج دارو- درختواره

## مقدمه

معمولا اندازه ذراتی که در مقیاس نانو به عنوان حامل دارویی به کار گرفته می‌شوند، بین ۱۰۰-۱۰۰۰ nm است. نانوذرات معمولا به ذراتی اطلاق می‌شود که اندازه آنها کمتر از ۱۰۰ nm باشد. استفاده از نانوذرات به ارائه بهتر داروها و دسترسی راحت‌تر به حامل‌های دارویی منجر شده است. نانوذرات حامل دارو می‌تواند شامل ذرات فلزی مانند طلا، نقره، ذرات اکسید فلزی، پلیمرهای مبتنی بر موادی همچون پلی(لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید) (PLGA) و لیپیدهای بر پایه ذراتی همچون لیپوزوم‌های نانو، نانوذرات لیپیدی جامد و نانوامولسیون‌ها باشد. هر یک از این مواد ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاصی مانند بار سطح، آب‌گریزی، انحلال‌پذیری، اندازه، شکل و شدت تجمع دارند که با توجه به آن برای واکنش‌های زیستی خاصی می‌توانند استفاده شوند (شکل ۱).

## طبقه‌بندی نانوذرات

نانوذرات از نظر اندازه، شکل و ترکیبات موجود به گروه‌های مختلف تقسیم‌بندی می‌شوند. شکل ۲ این گروه‌ها را نشان می‌دهد.

## درختواره‌ها به عنوان حامل دارو

درختواره‌ها یا درختسان‌ها، پلیمرهای پرشاخه‌ای هستند که از نظر شکل، اندازه، طول شاخه، چگالی و گروه‌های عاملی روی سطح قابل کنترل هستند (شکل ۳). این پلیمرها از هسته‌ای با اندازه نانو ساخته می‌شوند. روی این هسته شاخه‌های پلیمری با چگالی زیاد رشد می‌یابند و حفره‌ها و کانال‌هایی در کل مولکول به وجود می‌آورند. این کانال‌ها و ساختارهای بسته، امکان به دام انداختن فیزیکی یا کپسولی کردن داروها را فراهم می‌کند. افزون بر این، داروها می‌توانند به سطوح گروه دیگری از مولکول‌ها با ساختار پلیمری متصل شوند. با تغییر در گروه عاملی روی سطح درختواره‌ها، می‌توان هدف‌گذاری

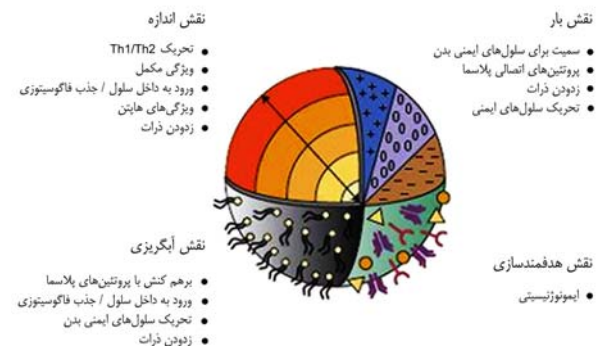


شکل ۲- انواع نانوذرات [۱].

را آسان‌تر کرده و تناسب زیستی را افزایش داد. برای مثال، درختواره‌های دارای بار مثبت در سطح، می‌توانند منجر به تخریب سلولی شوند [۲]. از نظر سمیت درونی نمی‌توان درختواره‌ها را به نوع ایمن و غیرایمن طبقه‌بندی کرد. پژوهش‌ها بیانگر آن است که درختواره‌ها را باید بر مبنای سازگاری زیستی مشخص و شناسایی کرد. زیرا، بین ویژگی‌های درختواره و کارکرد و تناسب زیستی آنها ارتباط ویژه‌ای وجود دارد. برای مثال، اندازه درختواره در انحلال‌پذیری و سمیت درون‌سلولی آنها نقش مهمی دارد، به طوری که با افزایش اندازه درختواره، انحلال‌پذیری و سمیت افزایش می‌یابد. اخیرا، درختواره‌هایی سنتز شده‌اند که دارای ویژگی ضدتوموری و ضدباکتریایی بوده و ظرفیت‌هایی برای گسترش تراوش غشایی دارند [۳]. همچنین، حامل‌های نانو با سامانه‌های ریزساختار معمولی جایگزین می‌شوند تا بتوانند داروها را پوشش‌دار کرده، در بخش‌های مختلف رها سازند. این مسئله موجب شبیه‌سازی عوامل محیطی مانند گرما، نور و اکسیژن می‌شود. برای غلبه بر سمی بودن حامل‌های پلیمری و شکل‌دهی ریزساختارها در حلال‌های آبی، ترکیب پلیمرها با پلی‌اتیلن اکسید و پلیمرهای زیست‌تخریب‌پذیر مثل پلی‌استرها انجام می‌شود.



شکل ۳- ساختار کلی یک درختواره.



شکل ۱- اثر خواص فیزیکی نانوذرات بر ویژگی‌های آنها [۱].

در سال ۱۹۹۰، Frechet روش جدید همگرا را برای ساخت درختواره‌ها معرفی کرد. درختواره‌های پلی‌اترآروماتیک Frechet به آسانی در دسترس‌اند و به کرات توسط پژوهشگران مختلف بررسی شده است [۶]. در اوایل دهه ۱۹۹۳، درختواره‌های فنیل استیلین توسط Moore با روش همگرا ساخته شد [۸].

اولین ساختارهای درختواره‌ای که به طور ویژه مورد تحقیق و استقبال گسترده‌ای قرار گرفت، درختواره‌های پلی‌آمیدوآمین (poly(amidoamine), PAMAM) و آربرول (Arborol) بود که توسط Tomalia [۷] و نیوکام [۹] ارائه شد (شکل ۵).

درختواره‌های PAMAM (شکل ۵-الف) از راه روش واگرا با استفاده از آمونیاک یا اتیلن آمین به عنوان هسته سنتز می‌شوند (شکل ۶). این روش شامل مراحل تکراری متوالی زیر است:

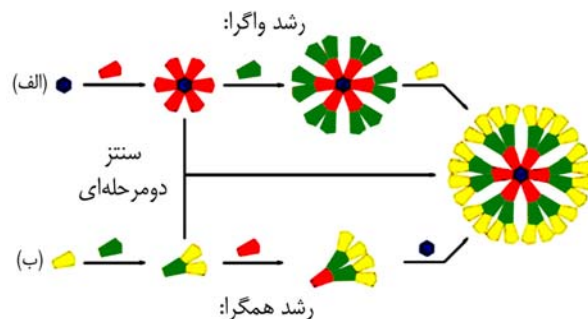
- ۱- افزایش مایکل (Michael) متیل‌آکریلات به گروه آمین اصلی و
- ۲- آمیدار کردن محصول کربومتوکسیل مخلوط شده با مقدار اضافی اتیلن دی‌آمین.

محصولات تا نسل ۱۰ (وزن مولکولی بیشتر از ۹۳۰۰۰۰ g/mol) با این روش به دست آمده است.

براساس کار Vogtle، در سال ۱۹۹۳، درختواره‌های پلی‌آمیدوآمین به طور واگرا (از هسته به حاشیه‌ها) توسط Meijer در هلند ساخته شد. اخیراً، درختواره‌های پلی‌پروپیلن ایمین (PPI) توسط شرکت DSM هلند در سطح تجاری تولید می‌شود. درختواره‌های PPI با روش واگرا با استفاده از ۴،۱-دی‌آمینوبوتان سنتز می‌شوند (شکل ۷)، که با روش متوالی و تکرار مراحل زیر به دست می‌آید:

- ۱- افزایش مایکل متیل‌آکریلات به گروه آمین اصلی و
- ۲- هیدروژن‌دار کردن تحت فشار در مجاورت کاتالیزور رنی-نیکل.

بدین ترتیب، محصولات تا نسل ۵ سنتز می‌شود.

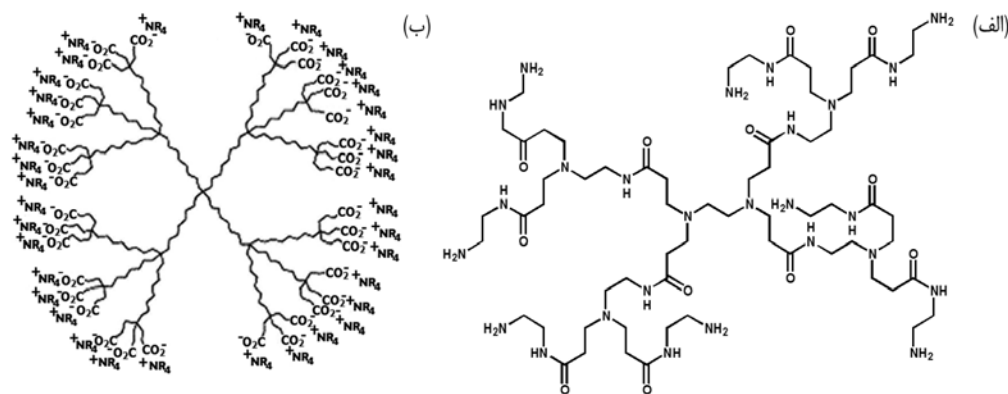


شکل ۴- تهیه درختواره‌ها به روش: (الف) واگرا و (ب) همگرا [۶،۷].

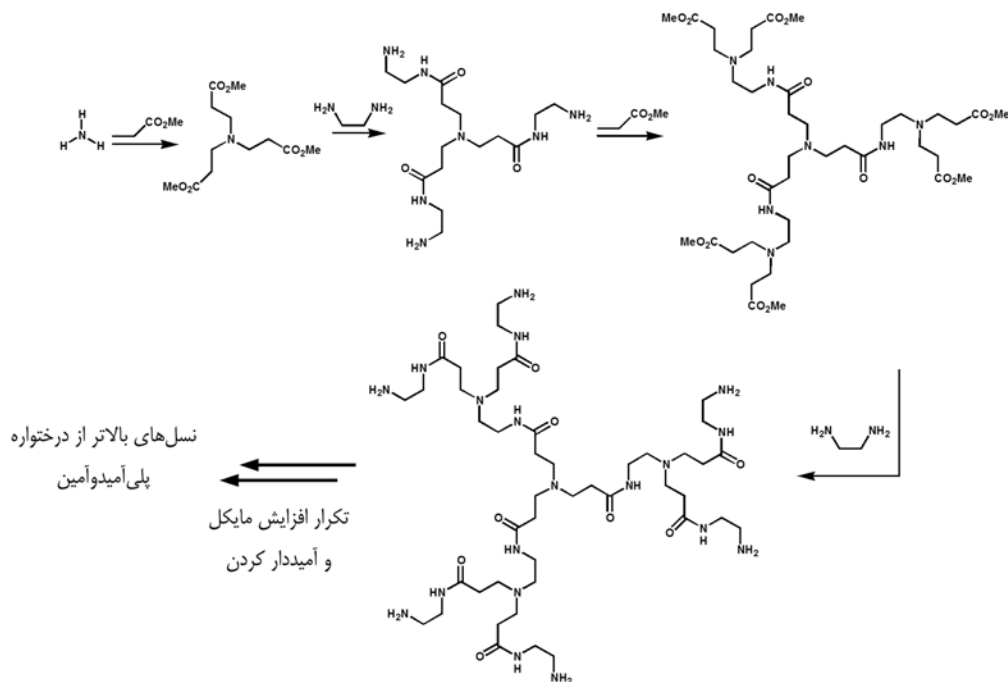
### روش‌های سنتز درختواره

با توجه به پیشرفت‌های حاصل در سنتز شیمیایی درختواره‌ها، گسترش سریع این نوع جدید از پلیمرها با ساختارهای قابل دسترس درختواره‌ای، در ابعاد معین (۵-۳ nm برای نسل‌های بالا) و تعداد گروه‌های عاملی پایانی قابل قبول انجام گرفته است.

برای اولین بار روند سنتز به طور تکراری با ساختار شاخه‌ای معین، توسط Vogtle در سال ۱۹۷۸ گزارش شد [۴]. وی این روند را "سنتز آبشاری" نامید. در اوایل ۱۹۸۱، Denkwaltler سنتز L-لیزین (L-lysine) با پایه درختواره را ثبت کرد [۵]. این روش، تهیه یک ساختار درختواره‌ای را تا نسل‌های بالا شرح می‌دهد، در حالی که به جزئیات روش سنتز اشاره نشده است. در حالت کلی، روش‌های منجر به تشکیل این ساختارهای سه‌بعدی به دو دسته تقسیم می‌شوند. اول، روش‌هایی که در آنها سنتز از ریشه شروع شده و به شاخه‌ها ختم می‌شود که به آن روش‌های واگرا می‌گویند (شکل ۴-الف). دوم روش‌هایی که طی آنها سنتز از شاخه‌ها شروع شده و به هسته می‌رسد که به روش‌های همگرا معروف شده است (شکل ۴-ب).



شکل ۵- درختواره: (الف) پلی‌آمیدوآمین و (ب) آربرول [۷،۹].

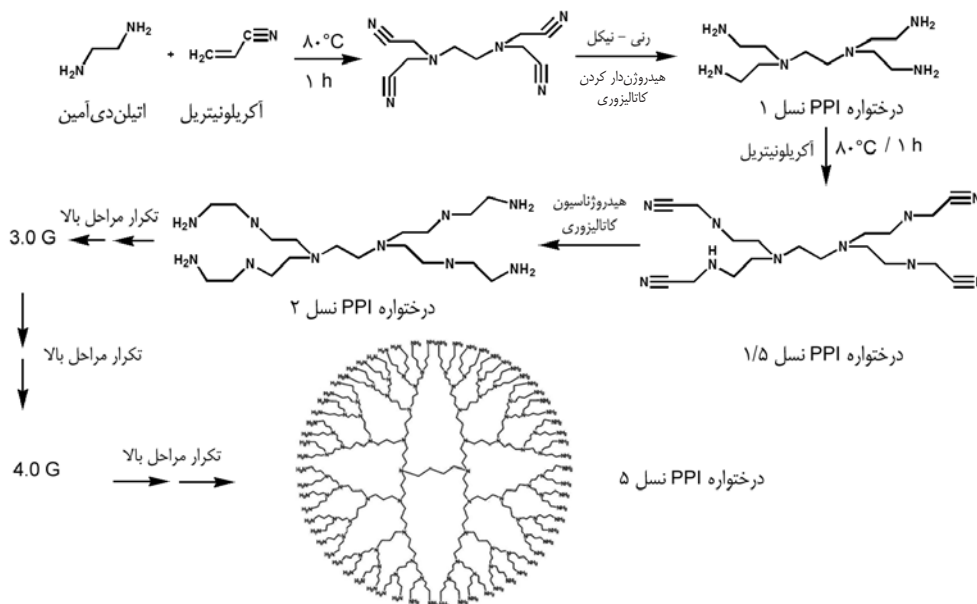


شکل ۶- سنتز درختواره PAMAM با روش واگرا [۱۰].

### کاربردهای دارویی درختواره PAMAM

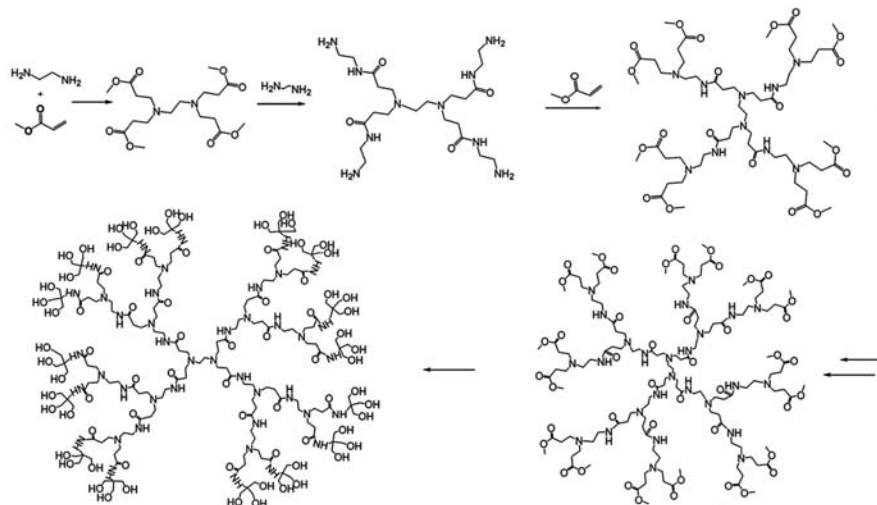
با این حال، ناسازگاری در تعداد مولکول‌های فولیک اسید و متوترکسات پیوند شده به هر درختواره، به ویژه در سنتزهای در مقیاس زیاد منجر به دسته‌های با فعالیت زیستی متفاوت شد. برای رفع این مشکل با شیمی کلیک یک زوج چندظرفیتی جدید سنتز شد که متوترکسات با استفاده از یک اتصال دهنده آمیدی پایدار در برابر

Thomas و همکاران در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند، درختواره نسل پنجم پلی‌آمیدوآمین با گروه انتهایی فولیک اسید و متوترکسات (Methotrexate) شیمی درمانی بهتری نسبت به متوترکسات خالص دارد.



شکل ۷- درختواره پلی‌پروپیلن‌ایمین یا PPI با نام تجاری ASTRAMOL™ [۱۱].





شکل ۸- سنتز درختواره نسل ۲/۵ PAMAM و عامل دار کردن آن با TRIS [۱۳].

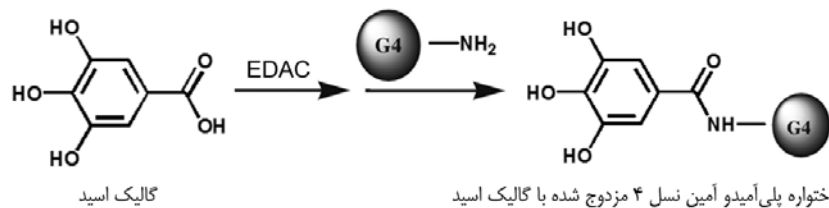
ترکیبی کمپلکس درختواره-دارو استفاده شود. محاسبات انرژی برای چهار داروی ضدالتهاب غیراستروئیدی (non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID) شامل ناپروکسن (naproxen)، کتوپروفن (ketoprofen)، ایبوپروفن (ibuprofen) و دیفلونیزال (diflunisal) انجام شد (جدول ۱). ویژگی مشترک داروهای مزبور این است که آنها دارای خاصیت اسیدی ضعیف بوده و گروه‌های کربوکسیل در ساختار خود دارند. محاسباتی که روی این داروها انجام شد، نشان‌دهنده مقدار متفاوت میل ترکیبی این داروها به درختواره پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم است. از نظر تجربی مقدار کشش دارو به سمت درختواره به ترتیب (کتوپروفن > ناپروکسن > ایبوپروفن > دیفلونیزال) است. مطالعات انرژی تعادل بین داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی و درختواره پلی‌آمیدوآمین از راه محاسبات مکانیک رابطه خوبی با ثابت تفکیک تجربی را نشان می‌دهد. بنابراین انتظار می‌رود، ناپروکسن برهم‌کنش بیشتر و به دنبال آن کمترین انرژی تعادلی را با PAMAM نسل چهارم داشته باشد. بین چهار داروی

آنزیم استراز (esterase-stable amide linkage) به درختواره متصل شد. رزونانس پلاسمون سطح (surface plasmon resonance, SPR) پیوند بررسی شده نشان داد، این زوج جدید ۴۳۰۰ برابر متوترکسات خالص پیوستگی دارد. افزون بر این، متوترکسات چندظرفیتی می‌تواند در دو زمینه ایفای نقش کند، یعنی به همان خوبی که به عنوان داروی شیمی‌درمانی می‌تواند استفاده شود، به عنوان مولکول هدف هم کاربرد دارد. این زوج می‌تواند به عنوان دارو برای درمان بیماری‌های التهابی استفاده شود. در این آزمایش، فن SPR برای بررسی سینتیک پیوند استفاده شد [۱۲]. در همان سال، سنتز یک مرحله‌ای درختواره پلی‌آمیدوآمین با حاشیه تریس (TRIS) برای درمان سلول‌های سرطانی توسط Castro و همکاران انجام گرفت، شکل ۸ [۱۳].

Salas و همکاران در سال ۲۰۱۲، الگوریتم متروپولیس مونت کارلو (Metropolis Monte Carlo) را برای محاسبه انرژی برهم‌کنش درختواره-دارو به کار بردند. این الگوریتم می‌تواند در پیش‌بینی میل

جدول ۱- ویژگی و داده‌های چهار داروی ضدالتهاب غیراستروئیدی [۱۴].

نام شیمیایی	D <sub>1</sub> دیفلونیزال،	D <sub>2</sub> ایبوپروفن،	D <sub>3</sub> کتوپروفن،	D <sub>4</sub> ناپروکسن،
ساختار مولکولی				
فرمول تجربی	C <sub>13</sub> H <sub>8</sub> F <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
Ln(k <sub>1</sub> /k <sub>2</sub> )	۲/۵	۲/۱	۱/۱	۰

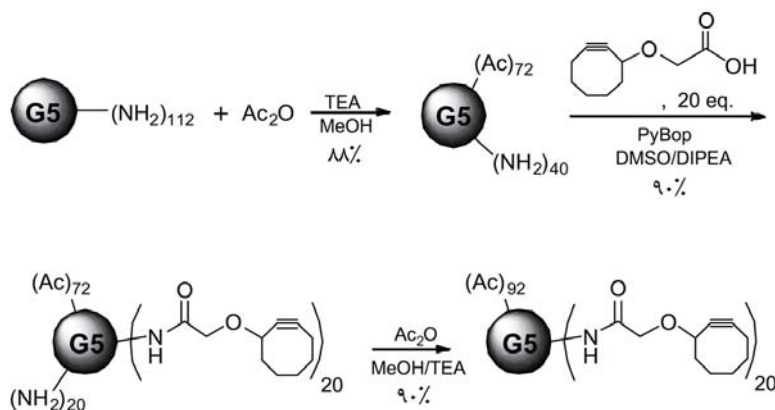


شکل ۹- مزدوج کردن گالیک اسید به درختواره نسل چهارم PAMAM در مجاورت EDAC [۱۵].

به نظر می‌رسد، تعادل الکتروستاتیک بین گروه‌های آمینی سطح درختواره و گروه کربوکسیل داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی جزء اصلی این نوع از برهم‌کنش‌ها باشد [۱۴].

درختواره‌های PAMAM به عنوان نانوحامل‌هایی هستند که می‌توانند داروها را به خود متصل، کمپلکس یا کپسولی کنند و از آنها می‌توان در تصویربرداری نیز استفاده کرد. امروزه نیز درختواره‌های چندشاخه‌ای PAMAM به عنوان یک بستر مناسب برای حمل دارو به حساب می‌آیند. این ویژگی‌ها باعث شد تا اتصال نسل چهارم درختواره PAMAM با گالیک اسید (gallic acid, GA) در مجاورت ۱-اتیل-۳-(۳-دی‌آمینوپروپیل) کربودی‌ایمید (ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride, EDAC-1) توسط Sharma و همکاران در سال ۲۰۱۱ ارائه شود. نتایج به دست آمده برای سمیت سلولی نشان داد، مزدوج شدن این دو ترکیب با یکدیگر باعث هم‌افزایی قدرت داروی ضدسرطان در بافت زنده و حفظ داروی ضدسرطان در شرایط فیزیولوژیک پلاسما می‌شود. از طرفی نشان داده شد، این مزدوج شدن می‌تواند از سمیت داروی خالص ضدسرطان که از رهائش ناخواسته پیش از رسیدن به محل مورد

مورد مطالعه، دیفلونیزال ضعیف‌ترین برهم‌کنش و بیشترین انرژی تعادلی را نشان داد. تفاوت در مقدار انرژی تعادلی بین ناپروکسن و دیفلونیزال حدود ۱۵/۴ kcal/mol بود. انعطاف‌پذیری دارو عامل مهمی در برهم‌کنش دارو-درختواره است. برای داروهایی که بیشترین درجه آزادی را دارند، تعداد تماس‌های غیرپیوندی با درختواره افزایش می‌یابد. دیفلونیزال که ضعیف‌ترین میل ترکیبی را داراست، مولکول مسطح و سفت و سختی است. در حالی که ناپروکسن با بیشترین میل ترکیبی، دارای پنج زاویه پیچشی است. همچنین، ایوپروفن زوایای چرخش زیادی دارد، اما فقط یک حلقه آروماتیک دارد. بنابراین مولکولی انعطاف‌پذیر، اما با سهم انرژی پراکندگی ضعیف است. نتایج بالقوه نشان می‌دهد، مقدار برهم‌کنش هر دارو می‌تواند در نتیجه برهم‌کنش‌های غیرپیوندی بین بخش چربی‌دوست مونومر درختواره و داروها باشد. همان طور که گفته شد، ناپروکسن ساختاری با انعطاف‌پذیری و ظرفیت پیچشی بیشتر نسبت به دیفلونیزال با ساختار سفت و سخت است. همچنین، امکان تشکیل پیوند هیدروژنی بین آمین‌های نوع سوم در حفره‌های داخلی درختواره و بخش کربوکسیلیک داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی، تماس‌های آگریزی را افزایش می‌دهد.



شکل ۱۰- مزدوج کردن سیکلوآکتین با نسل پنجم درختواره PAMAM برای استفاده در واکنش‌های کلیک [۱۶].

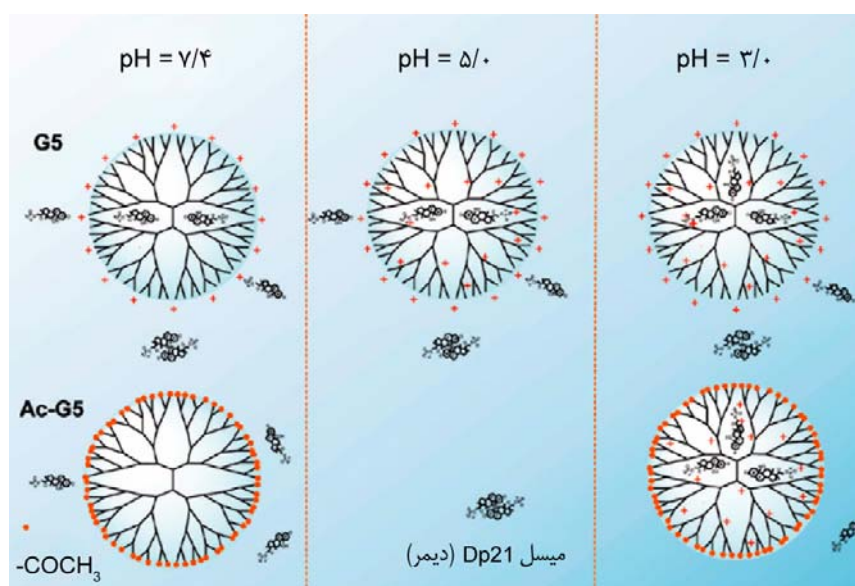
سرطانی و دیگری با مولکول زیست‌سمی برای کشتن آنها. در این پژوهش، به جای اتصال دو عامل به درختواره، از یک عامل با دو قابلیت استفاده شد. متوترکسات به عنوان یک عامل دوکاره روی درختواره PAMAM نسل پنجم متصل شد. رزونانس پلاسمون سطح ثابت کرد، متوترکسات اتصال یافته روی سطح درختواره قابلیت ایفای هر دو نقش را دارد [۱۸].

Yang و دستیاران نیز درختواره کاملاً استیل‌دار شده پلی‌آمیدوآمین را به عنوان یک حامل داروی زیست‌سازگار برای بارگذاری دگزامتازون ۲۱-فسفات (dexamethasone 21-phosphate, Dp21) به عنوان مدل دارویی طراحی کردند. در این آزمایش رفتارهای فیزیکی Dp21 در مجاورت درختواره‌های پلی‌آمیدوآمین نسل پنجم استیل‌دار شده و کاتیونی بررسی شد. درختواره‌های استیل‌دار شده تنها در شرایط اسیدی می‌توانند Dp21 را دربرگیرند. در حالی که درختواره‌های کاتیونی در هر دو شرایط خنثی و اسیدی می‌توانند از Dp21 میزبانی کنند. جهت‌گیری مولکول‌های Dp21 در حفره‌های درختواره، به درجه چهارتایی شدن گروه‌های آمین‌های نوع سوم درختواره و همچنین به مقدار پروتون‌دار شدن گروه‌های فسفات Dp21 بستگی دارد. رفتار بارزی از رهائش وابسته به pH برای Dp21 از بستر درختواره استیل‌دار شده و استیل‌دار نشده مشاهده شد. در pHهای کم، Dp21 سرعت رهائش بسیار آهسته از درختواره استیل‌دار شده و سرعت رهائش بیشتری از درختواره استیل‌دار نشده نشان می‌دهد. این موضوع، به واسطه برهم‌کنش شدید دارو با حامل در شرایط اسیدی است. مطالعات سمیت‌شناسی زیست

نظر رخ می‌دهد، جلوگیری کند (شکل ۹) [۱۵].

Huang و دستیاران در همان سال گزارشی از سنتز درختواره پلی‌آمیدوآمین نسل پنجم به عنوان بستر دارای لیگاندهای سیکلوآکتین ارائه کردند که با متوترکسات اصلاح شده با آزید وارد واکنش حلقه‌زایی ۳،۱-دی‌پلار (کلیک) می‌شود. نسل پنجم درختواره پلی‌آمیدوآمین به طور جزئی (۷۰٪) با استیک انیدرید، استیل‌دار شده و سپس از راه ایجاد پیوند آمیدی به ۲۰ اکی‌والان سیکلوآکتین متصل می‌شود. گروه‌های باقی‌مانده آمینی موجود در سطح درختواره‌ها مجدداً از راه استیل‌دار شدن خنثی شدند (شکل ۱۰). سپس این بستر، با تعداد متفاوتی از متوترکسات عامل‌دار شده با آزید، واکنش کلیک را با بازده زیاد انجام می‌دهد [۱۶].

Bielawski به همراه دستیاران در سال ۲۰۱۱، سمیت درون‌سلولی سامانه مزدوج کلرامبوسیل (chlorambucil) و درختواره نسل سوم پلی‌آمیدوآمین را با کلرامبوسیل خالص مقایسه کردند. درختواره نسل سوم پلی‌آمیدوآمین دارای ۳۲ آمین نوع اول روی سطح است که نسبت به درختواره‌های نسل بالاتر، سمیت و توزیع زیستی نسبتاً کمتری دارد. این آزمایش‌ها، که روی سرطان سینه انجام شد، نشان داد، فعالیت زوج دارو-درختواره برای جلوگیری از تکثیر سلول‌های سرطانی بسیار اثربخش‌تر از داروی خالص است [۱۷]. همچنین، Li و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارشی از انتقال داروی هدفمند به سلول سرطانی با استفاده از یک بستر درمانی ساده ارائه دادند. به طور معمول، نانوذرات با دو نوع مولکول متفاوت عامل‌دار می‌شوند، یکی با لیگاندهای هدفمند برای اتصال به سلول‌های



شکل ۱۱- مدل میزبان - مهمان حاصل از تجزیه NOESY برای کمپلکس Dp21 - درختواره در pH های مختلف [۱۹].



جدول ۲- ویژگی و داده‌های چهار داروی ضدالتهاب غیراستروئیدی [۱۴].

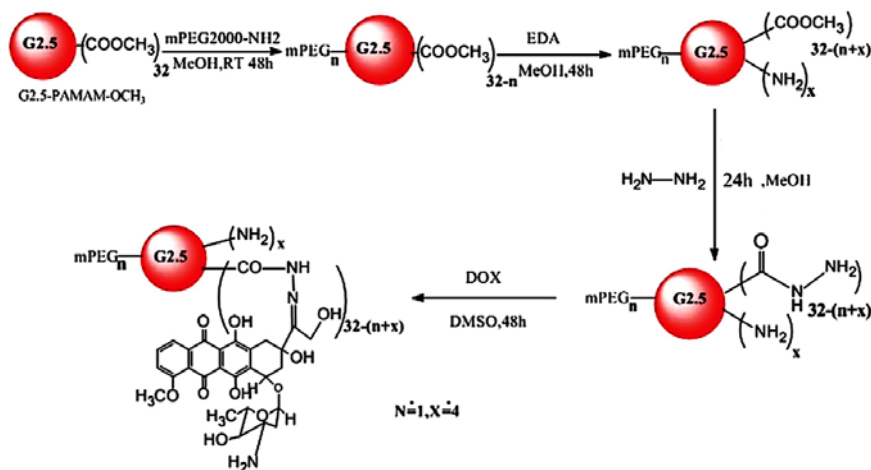
S 5-FU ( $\mu\text{M}$ )	C G4 ( $\mu\text{M}$ )
۷۹/۳۰۰	۰
۷۸/۸۴۰	۲/۵
۸۰/۲۵۰	۵
۸۰/۰۴۰	۱۰
۷۹/۷۵۰	۲۰
۸۲/۵۳۰	۳۰
۸۱/۳۶۰	۴۰
۸۳/۲۹۰	۵۰

C: غلظت درختواره بر حسب میکرومولار و S: انحلال‌پذیری دارو بر حسب میکرومولار

پلی‌آمیدوآمین با گروه‌های انتهایی  $\text{NH}_2$  می‌تواند ۱۰ مولکول ۵-فلوئوروراسیل را در محلول آبی جابه‌جا کند (جدول ۲). تعداد جایگاه‌های فعال در درشت‌مولکول‌های درختواره که قابلیت ترکیب شدن با دارو را دارد با روش جداسازی تجزیه شد. تعداد این جایگاه‌ها بین ۲۷ تا ۳۰ تخمین زده شد و نسبت مولاری دارو به درختواره ۱:۱۵۰۰۰-۱:۱۳۰۰۰ بود. ثابت تعادل پیوند ۵-فلوئوروراسیل فعال بین ۲۸۰ تا ۵۲۰ محاسبه شد [۲۰].

سامانه رهایش دارویی حساس به pH بر اساس مزدوج درختواره پلی‌آمیدو آمین دوکسوروبیسین (PAMAM-DOX) و نانوذرات اکسید آهن (IONPs) با خاصیت مغناطیسی زیاد توسط Chang و همکاران ساخته و بررسی شد. نانوذرات اکسید آهن با استفاده از

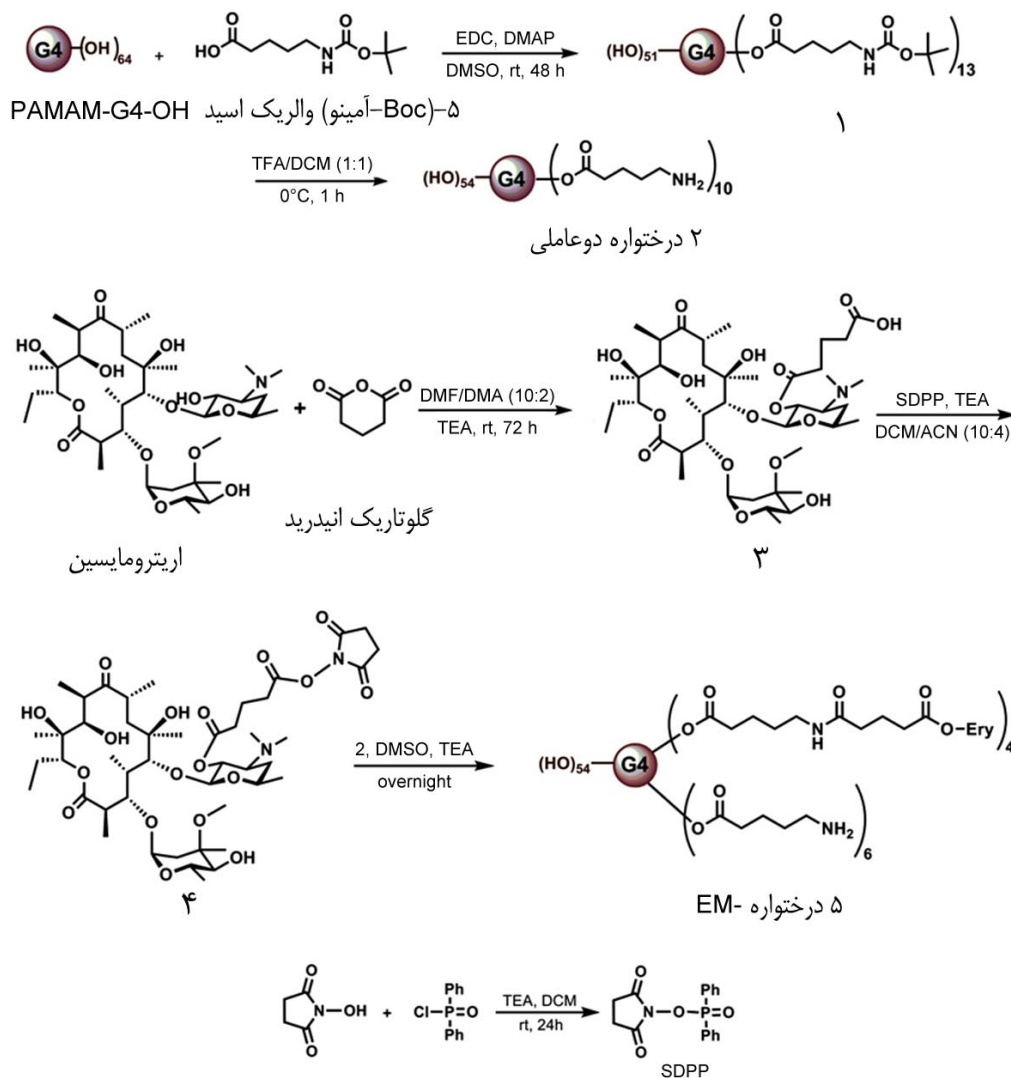
سازگار بودن درختواره استیل‌دار شده را تایید کرد و آن را برای انتقال دارو در بیماری‌های مختلف نسبت به درختواره‌های استیل‌دار نشده مطمئن‌تر تشخیص داد. از طرف دیگر، درختواره استیل‌دار شده در مقایسه با درختواره کاتیونی مدت زمان بیشتری در سامانه گردش خون بدن باقی می‌ماند. پس به نظر می‌رسد، استیل‌دار شدن برای کاهش سمیت و افزایش زیست‌سازگاری درختواره‌ها الزامی است. در نهایت اینکه درختواره‌های استیل‌دار شده می‌توانند حامل خوبی برای داروهای مختلف با بار منفی باشند (شکل ۱۱) [۱۹]. Buczowski و همکاران در سال ۲۰۱۱ ساختار تعادلی نسل چهارم درختواره پلی‌آمیدوآمین با پایانه  $\text{NH}_2$  کمپلکس شده با داروی ضدتومور ۵-فلوئوروراسیل (5-fluorouracil, 5-FU) را در آب در دمای محیط آزمایش کردند. آزمایش‌های انحلال‌پذیری این دارو در آب در مجاورت درختواره نسل ۴ از پلی‌آمیدوآمین با پایانه  $\text{NH}_2$  نشان داد، این درختواره کمپلکس‌های ابرمولکول با این دارو تشکیل می‌دهد. درختواره کاتیونی PAMAM (نسل کامل) انتقال دهنده‌های خوبی برای انتقال داروهای با گروه عاملی آنیونی هستند، در حالی که درختواره PAMAM آنیونی (نیمه نسل) داروهای کاتیونی را به خوبی منتقل می‌کنند. هر دو نوع درختواره‌ها سمیتی نشان می‌دهند که با استفاده از قندها یا گروه‌های عاملی آمینواسیدی قابل اصلاح هستند. علت استفاده از این درختواره قابلیت جایگزینی گروه‌های عاملی سطح آن با مولکول‌هایی است که قابلیت تشخیص سلول‌های سرطانی را دارند. با استفاده از نتایج آزمایش‌هایی نظیر انحلال‌پذیری دارو در محلول درختواره و روش دیالیز تعادلی، حداکثر تعداد مولکول‌های دارو در کمپلکس دارو-درختواره و ثابت تعادل آن به دست آمد. نتایج نشان داد، نسل چهارم



شکل ۱۲- واکنش سنتز سامانه مزدوج mPEG-G2.5-DOX-IONPs [۲۱].

بیماری‌زاهای (pathogen) شناخته شده برای عفونت‌های ژنتیکی و عوارض چند بیماری دیگر مثل التهاب آرتروز است. درمان کلامیدیا با آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل آزیترومایسین (Azithromycin, AZ) به عنوان یک مبارز در برابر پاتوژن باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت انجام می‌گیرد. Mishra و همکاران در سال ۲۰۱۱ از یک درختواره پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم خنثی برای تشکیل زوج دارویی و انتقال به داخل سلول (اجزای کلامیدیا) استفاده کردند. آزیترومایسین با موفقیت به گروه آخر هیدروکسیلی خنثی درختواره پیوند داده شد. این زوج به هر دو سلول عفونی Chlamydia-infected HEp-2 cells و اجزای آن وارد شد، به طوری که تقریباً ۹۰٪ داروها را طی ۱۶ ساعت در داخل سلول رها کرد. حتی برای

PEG – G2.5 PAMAM (شکل ۱۲) پایدار شد. هر دو زوج سنتز شده mPEG -G2.5-DOX و PAMAM-DOX-IONPs سامانه‌های رهایشی وابسته به pH را دارند که می‌توانند فعالیت دوکسوروبیسین را در محیط‌های بافری سلول‌های سرطانی کنترل کنند. نیم‌رخ رهایش دارویی زوج درختواره دوکسوروبیسین در pH‌های ۵ و ۷/۴ بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد، رهایش هیدرولیتی می‌تواند فقط در شرایط pH لیزوزومی به دست آید (pH=۵). نانوذرات اکسید آهن هیچ لیگاندی برای وصل شدن دارو به سطح را ندارد، ولی برای تشخیص و درمان سرطان درون‌تنی قابل استفاده است [۲۱]. کلامیدیا تراکوماتیس (Chlamydia trachomatis)، از



شکل ۱۳- تهیه درختواره دو عاملی: (الف) پلی‌آمیدوآمین و (ب) مزدوج PAMAM-G4-EM [۲۳].

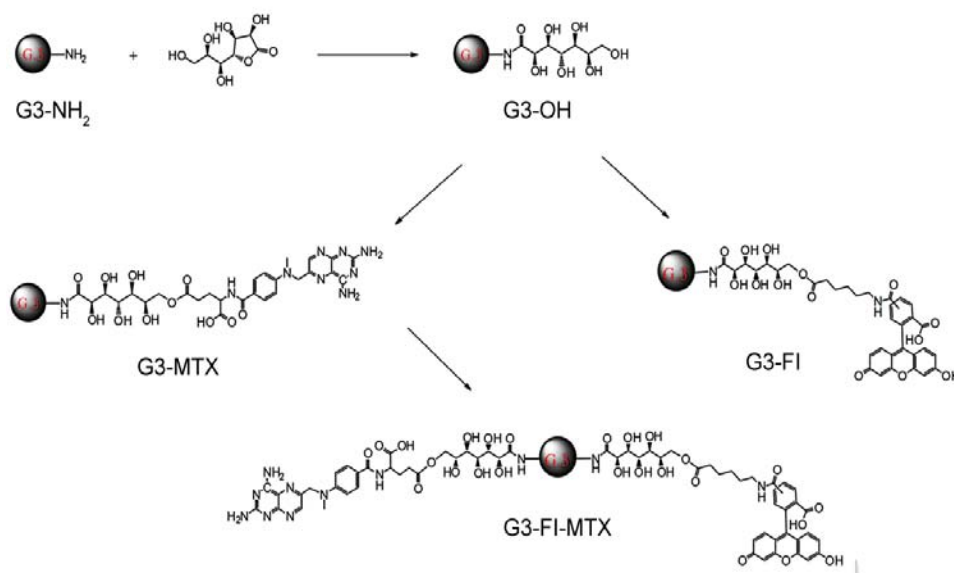
آزاد است. این موضوع شاید به علت آن است که سلول‌های استفاده شده گرم مثبت استافیلوکوک اورئوس (gram-positive *S. aureus*) دیواره ضخیم دارند و درختواره ختنی نمی‌تواند انتقال درون‌سلولی قابل توجهی نسبت به داروی خالص داشته باشد [۲۳].

Zhang به کمک دستیاران در همان سال، طی آزمایشی نسل سوم درختواره پلی‌آمیدوآمین با گروه پایانی ساکارید را به عنوان حامل دارویی سنتز کرد و با استفاده از این درختواره داروی ضدسرطان متوترکسات را انتقال داد (شکل ۱۴). نتایج رزونانس پلاسمون سطح نشان داد، این زوج در مقایسه با اسید فولیک خالص، تمایل پیوند فولات به پروتئین را تا سه برابر افزایش می‌دهد. این زوج چندظرفیتی توان انتقال داروهای سرطانی بسیار کوچک را برای هدف‌های خاص دارند [۲۴].

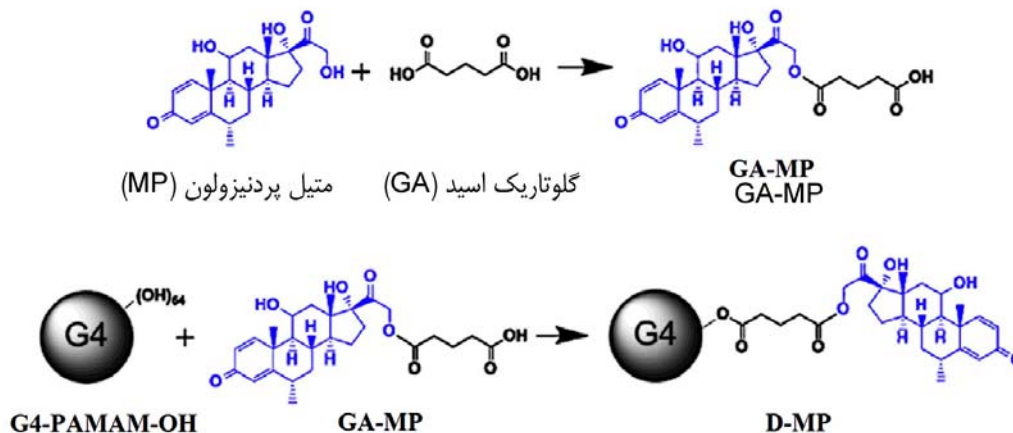
Zhang و دستیاران براساس مطالعات اخیر خود، نسل چهارم PAMAM پگیله شده (PAMAM-PEG) را به‌وسیله پیوند حساس به اسید سیس-آکونیتیل (cis-aconityl linkage) و پیوند غیرحساس به اسید سوکسینیک (succinic linkage) به داروی ضدسرطان دوکسوروبیسین (DOX) متصل کردند. آنها به ترتیب مزدوج‌های PPCD و PPSD را تولید کردند. مزدوج‌های تهیه شده با RGD (R: arginin, G: glycine, D: aspartic acid) اصلاح شدند و سامانه‌های جدید RGD-PPSD و RGD-PPCD تشکیل دادند. اثر مزدوج‌های اولیه و اصلاح شده PPSD، PPCD، RGD-PPSD و RGD-PPCD در شرایط آزمایشگاهی روی بافت زنده غده مغزی بررسی شد. در شرایط آزمایشگاهی، سمیت

اثرگذاری بر ضعیف کردن رشد داخل سلولی کلامیدیا تراکوماتیسی مقاوم هم این زوج‌ها بازده بیشتری در مقایسه با داروهای خالص نشان دادند. تمام واکنش‌ها در شرایط نیتروژن انجام گرفت [۲۲]. اریترومایسین (Erythromycin, EM)، آنتی‌بیوتیکی است که برای درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌شود. در حال حاضر، این آنتی‌بیوتیک به دلیل آثار ضدالتهاب آن، مورد توجه بیشتری قرار گرفته است. Bosnjakovic و دستیاران برای درمان پایدار التهاب ارتوپدی، نانوذره درختواره EM-را تهیه کردند (شکل ۱۳). برای حفظ فعالیت‌های دارویی، اریترومایسین با درختواره پلی‌آمیدوآمین از راه پیوند استری مزدوج شد. درختواره پلی‌آمیدوآمین دوعاملی با گروه‌های هیدروکسیل ختنی و گروه‌های آمین فعال در سطح تهیه شد و با پیش‌داروی اریترومایسین به نام اریترومایسین-۲-گلوتارات (EM-2'-glutarate) واکنش داده شد.

درختواره PAMAM با پایانه هیدروکسی زیست‌سازگاری بیشتر و سمیت کمتری نسبت به درختواره با پایانه آمینی دارد. نتایج تجزیه‌ها نشان داد، سامانه مزدوج درختواره-EM بازده مفیدی (۱۶٪) در ره‌ایش دارو و بهبود انحلال‌پذیری دارو دارد که می‌تواند منجر به بهبود فعالیت شود. به خاطر وجود آمین‌های نوع سوم در ساختار درختواره-EM، این مزدوج قابلیت بهبود انحلال و افزایش فعالیت داروها را نسبت به داروی خالص دارد. از دیگر مزایای این مزدوج می‌توان به انتقال داروی بیشتر به سلول‌ها و ره‌ایش دارو در مقیاس زمانی مناسب‌تر اشاره کرد. در حالی که اثر آنتی‌بیوتیکی آن در حد داروی



شکل ۱۴- سنتز PAMAM-FI-MTX [۲۴].



شکل ۱۵- طرح از واکنش ترکیب نسل چهارم پلی آمیدوآمین حاوی گروه پایانی OH با متیل پردنیزولون [۲۶].

### مطالعات شبیه سازی دینامیک مولکولی درختواره PAMAM

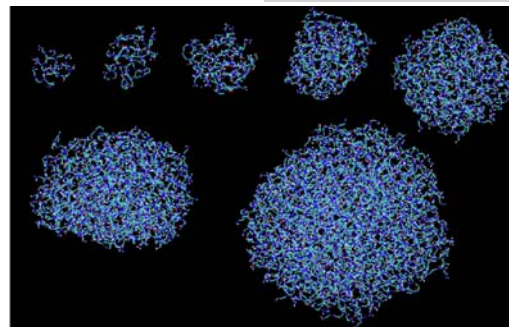
Lee و همکاران در سال ۲۰۰۶، PAMAM-G50 و ۹۰ درصد استیل دار شده را در آب و متانول با استفاده از شبیه سازی دینامیک مولکولی شبیه سازی کردند. شعاع ژیراسیون به دست آمده به ترتیب برابر با ۲/۵۱ و ۲/۱۱ nm بود که به نتایج آزمایشگاهی نزدیک بود. اتصال شاخه های درختواره به اتم اکسیژن مولکول آب نشان می دهد، سطح درختواره حالت آبدوست دارد. در حالی که ناحیه میانی متراکم تر است و حلال نمی تواند در آن منطقه زیاد نفوذ کند. تفاوت بین آب و متانول اثر قابل توجهی روی شکل، اندازه و ویژگی برهم کنش های پیوند هیدروژنی بین مونومرها نداشت. به نظر می رسد، آب و متانول تعداد برهم کنش های پیوند هیدروژنی یکسانی بین مونومرها ایجاد می کنند. در این پژوهش، از نرم افزارهای AMBER8 و GROMACS استفاده شد [۲۷،۲۸]. Han و همکاران در سال ۲۰۰۵ بررسی دینامیک مولکولی را روی ویژگی های PAMAM با هسته اتیلن دی آمین و گروه های سطحی آمینی از نسل ۱ تا ۷ در مجاورت حلال انجام دادند (شکل ۱۶). زمانی که آمین ها پروتون دار شده باشند، شرایط شبیه سازی برای یک محلول قلیایی رقیق طراحی می شود. همه نسل ها کروی هستند، ولی در نسل های بالاتر، درختواره ها به شکل لبه تیز و چندوجهی هستند. نیم رخ چگالی نشان می دهد، درختواره ها کره هایی با چگالی های ثابت هستند و چگالی ها مستقل از شماره نسل در حلال آبی هستند. در این پژوهش، از نرم افزار Gromacs استفاده شده است [۲۹].

Zhong و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی درختواره PAMAM شبیه سازی هایی به روش های مختلف از نسل ۲ تا ۶ انجام دادند.

ترکیبات حساس به اسید در برابر سلول های C6 بیشتر از آنهایی بود که ترکیبات غیر حساس به اسید داشتند. نمونه های اصلاح شده با RGD، سمیت سلولی DOX-پلیمر را افزایش دادند. هر چند در مقایسه با محلول دوکسوروبیسین، تمام مزدوج ها به طور قابل توجهی مدت نیمه عمر طولانی تر، اثر درمانی بهتر و تجمع بیشتر را در تومور مغزی نسبت به بافت سالم مغز به نمایش گذاشتند. اگر چه تجمع RGD-PPCD در تومور به اندازه دو برابر کمتر از RGD-PPSD بود، ولی طولانی ترین زمان ماندگاری را در میان تمام گروه های درمانی داشت. در نتیجه، مزدوج RGD-PPCD کاندیدای مطلوبی برای درمان هدفمند سرطان مغزی در مقایسه با سایر مزدوج ها به حساب می آید [۲۵].

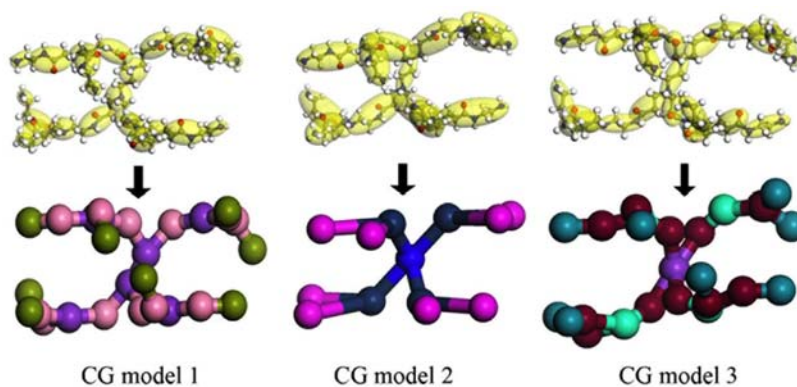
متیل پردنیزولون (Methylprednisolone, MP) یک کورتیکو-استروئید مهم استنشاقی برای درمان التهاب ریه توأم با آسم است. Inapagolla و همکاران، نسل چهارم پلی آمیدوآمین با گروه پایانی OH را با متیل پردنیزولون ترکیب کردند. بدین ترتیب، هر درختواره ۱۲ مولکول MP در برداشت (شکل ۱۵). حامل تنها، MP خالص و MP-درختواره (۵ mg از MP به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجود در هر روز) به شکل پنج بار استنشاق روزانه از راه بینی استعمال شد. مزدوج کردن MP با درختواره باعث افزایش قابلیت MP برای کاهش آلرژی ناشی از التهاب شده و منجر به بهبود زمان اقامت دارو در ریه می شود.

نکته مهم اینکه تنها ۲۴٪ تجویز یک دوز درختواره به محیط ریه طی یک دوره ۳ روزه از دست می رود. بنابراین، مزدوج دارویی درختواره ها روشی بهبود یافته برای حفظ دارو در داخل ریه برای درمان اختلالات التهابی از جمله آسم است [۲۶].



شکل ۱۶- نسل ۱ تا ۷ درختواره PAMAM [۲۹].

شبیه‌سازی‌ها شامل تمام اتم و دانه درشت بودند. سپس، بازده این دو روش با هم مقایسه شد. در روش تمام اتم از میدان نیروهای COMPASS، DREIDING و CVFF استفاده کردند. تحلیل نتایج نشان داد، میدان نیروی DREIDING نسبت به دو میدان نیروی دیگر بهتر است. آنها دریافتند، درختواره PAMAM ساختار نسبتاً همگن با گروه‌های پایانی خارجی فراوان و حفره‌های داخلی گسترده است. همین ویژگی‌های خاص باعث شده تا به عنوان حامل دارو از آن استفاده شود. سپس، Zhong و همکاران ساختار دانه‌درشت درختواره PAMAM را در ۳ مدل مختلف شبیه‌سازی کردند (شکل ۱۷). بازده و صحت شبیه‌سازی‌ها با استفاده از روش دانه‌درشت و تمام اتم با هم مقایسه شد (شکل ۱۸). نتایج شبیه‌سازی نشان داد، شبیه‌سازی با روش دانه‌درشت از نظر صرفه‌جویی در زمان، به‌ویژه در نسل‌های بالای درختواره بسیار باصرفه‌تر از روش تمام اتم است. تفاوت در نتایج ۳ مدل دانه‌درشت نشان می‌دهد، مدل‌های دانه‌درشت اثر قابل توجهی روی صحت مدل‌سازی دارد. در این پژوهش، از میدان‌های نیروی COMPASS، DREIDING و CVFF برای مدل تمام اتم و از میدان نیروی Martini برای مدل دانه‌درشت استفاده شد [۳۰].

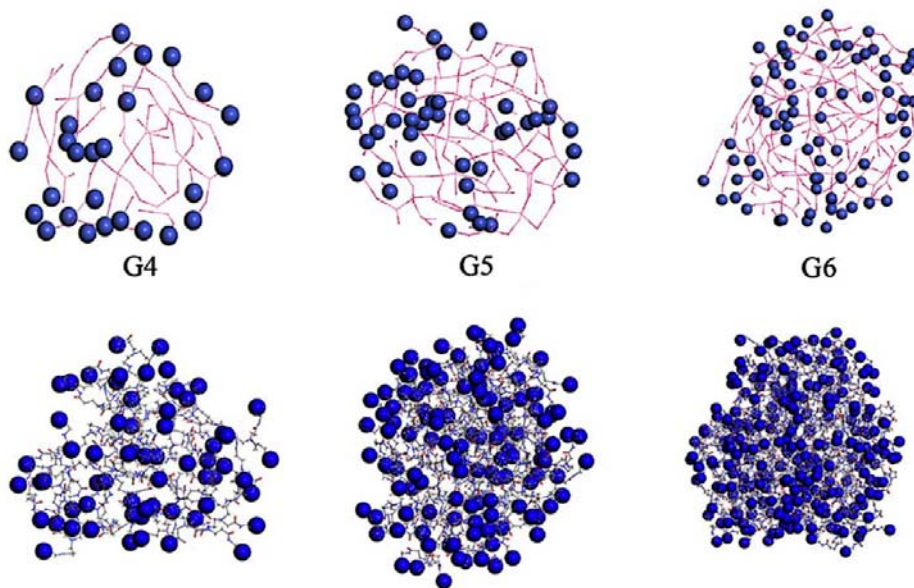


شکل ۱۷- انواع مدل دانه‌درشت برای نسل G1 درختواره PAMAM [۳۰].

Ouyang و همکاران در سال ۲۰۱۱ پژوهشی در باره سامانه مزوج درختواره نسل پایین با siRNA در محیط‌هایی با pH مختلف انجام دادند. کمپلکس‌ها در pH کم فشرده‌تر از آنها بودند که در pH خنثی هستند [۳۱].

در همان سال، لی و همکاران، نسل ۴ درختواره PAMAM را که دارای ۶۴ پایانه است، با صفر تا ۳ مولکول هیستیدین (Histidine) و یک آرژینین (Arginine) در pH ۵ و ۷ پیوند زدند (شکل ۱۹). آرژینین در هر دو pH کاتیونی است، ولی هیستیدین فقط در pH=۵ کاتیونی است. این شبیه‌سازی با استفاده از مدل دانه‌درشت انجام گرفته است. در این کار پژوهشی، اتصال آرژینین تنها به درختواره، اندازه کمپلکس درختواره را در هر دو pH، نسبت به درختواره اصلاح نشده افزایش داد. اتصال هیستیدین و سپس آرژینین به پایانه درختواره تغییری در اندازه کمپلکس در pH=۷ نسبت به آرژینین تنها ایجاد نکرد، ولی در pH برابر ۵، افزوده شدن هیستیدین، اندازه درختواره را افزایش داد. در pH برابر ۵ هیستیدین کاتیونی است. پس افزایش بار، تورم درختواره را افزایش می‌دهد. افزایش اندازه احتمال دارد سمیت درختواره را در pH=۵ افزایش دهد. در pH=۷، پیوند هیستیدین ساختار هسته چگال (dense-core) ایجاد می‌کند. ولی این پیوند، هیچ تغییری در ساختار پوسته چگال در pH=۵ ایجاد نمی‌کند. این موضوع نشان می‌دهد، اتصال هیستیدین حفره‌های داخلی هسته درختواره را در pH=۷ متراکم‌تر می‌کند، در نتیجه بازده کپسولی کردن دارو کم می‌شود. به کمک این شبیه‌سازی آثار مهم اتصال پپتیدها روی سمیت و بازده کپسولی کردن در pHهای مختلف، که می‌تواند کارهای آزمایشگاهی را تایید کند، بررسی می‌شود. در این مطالعه از نرم افزار گرومکس (Gromacs) استفاده شده است [۳۲].

درک برهم‌کنش درختواره-دارو از موضوعات مهمی است که با استفاده از آن می‌توان سامانه‌های انتقال دارو را بر اساس درختواره



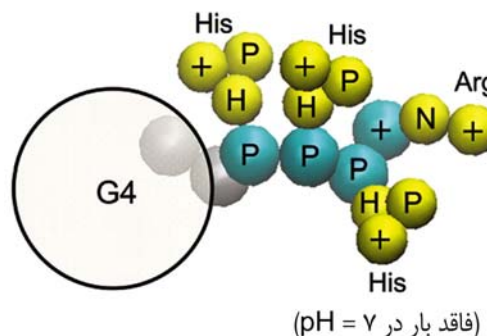
شکل ۱۸- توزیع گروه‌های پایانی روی درختواره PAMAMA از نسل ۴ تا ۶ با مدل دانه‌درشت نوع ۱ و مدل تمام اتم [۳۰].

برای داروهای نامحلول به دلیل اندازه بزرگتر آنها سهم نیروهای غیرقطبی بیشتر مشاهده شد. سد انرژی زیاد این مولکول‌ها می‌تواند دلیلی بر سهم پیوند واندروالسی باشد. در این پژوهش از میدان نیروی عمومی امبر (General Amber Force Field) و نرم‌افزار امبر (AMBER) استفاده شده است [۳۳].

### نتیجه‌گیری

درختواره پلی‌آمیدوآمین یکی از پرکاربردترین درختواره‌ها در زمینه انتقال دارو، ژن و عوامل درمانی است. این درختواره شامل هسته داخلی و شاخه‌های جانبی است که هسته معمولاً از اتیلن دی‌آمین تشکیل می‌شود. روش‌های سنتز شاخه‌های جانبی معمولاً به دو شکل واگرا و همگرا طراحی می‌شود. مزیت درختواره‌ها نسبت به پلیمرهای خطی داشتن توزیع جرم مولکولی بسیار باریک، وجود شاخه‌های زیاد و افزایش احتمال گیرافتادن دارو در این محل‌هاست. محل اتصال دارو یا ژن می‌تواند حفره‌های داخلی درختواره یا گروه‌های پایانی آن باشد. برای آبدوست کردن درختواره معمولاً گروه‌های پایانی آن را با گروه‌های عاملی ویژه پیوند می‌دهند. این گروه‌ها باعث زیست‌سازگار شدن درختواره نیز می‌شود. استفاده از روش دینامیک مولکولی احتمال انجام واکنش‌ها را پیش‌گویی می‌کند. در شبیه‌سازی ساختار احتمالی درختواره، بارگذاری دارو

طراحی و بهبود بخشید. Maingi و همکاران در سال ۲۰۱۲ با استفاده از شبیه‌سازی دینامیک مولکولی رهائش ۴ لیگاند شامل دو داروی محلول در آب سالیسیلیک اسید (Sal) و آلانین (Ala) و دو داروی نامحلول در آب فنیل بوتازون (Pbz) و پریمیدون (Prim) را از درختواره PAMAM با هسته اتیلن دی‌آمین که با فرایند داکینگ (Docking) در درختواره بارگذاری شده بودند بررسی کردند. پتانسیل متوسط نیرو (potential of mean force) برای درختواره نسل ۵ که با داروها کمپلکس شده بود با استفاده از روش نمونه‌گیری چتری (umbrella sampling) محاسبه شد. با توجه به نتایج مشاهده شد، داروهای محلول سد انرژی کمتری دارند. ترتیب سهولت رهائش برای این داروها از درختواره نسل ۵ پروتون‌دار شده PAMAM، بدین ترتیب است:



شکل ۱۹- مدل دانه درشت G4-His-His-Arg [۳۲].

را به راحتی می‌توان با محاسبات دینامیک مولکولی ارزیابی کرد.

در درختواره و رهایش آن مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد. همچنین، اثر pH در اتصال داروهای آبدوست و آبگریز به درختواره

## مراجع

- Naahidi Sh., Jafari M., Edalat F., Raymond K., Khademhosseini A., and Chen P., Biocompatibility of Engineered Nanoparticles for Drug Delivery, *J. Control. Release*, **166**, 182-194, 2013.
- Halets I., Shchabin D., Klanjert B., and Bryszewska M., Contribution of Hydrophobicity, DNA and Proteins to the Cytotoxicity of Cationic PAMAM Dendrimers, *Int. J. Pharma.*, **454**, 1-3, 2013.
- Balogh L., Swanson D., Tomalia D., Hagnauer G., and McManus A., Dendrimer-Silver Complexes and Nanocomposites as Antimicrobial Agent, *Nano Lett.*, **1**, 18-21, 2001.
- Buhleier, E., Wehner W., and Vogtle F., Cascade and Nonskid-chain Like Synthesis of Molecular Cavity Topologies, *Synthesis*, **2**, 155-158, 1978.
- Denkewalter R.G., Kolc J.F., and Lukasavage W.J., Macromolecular Highly Branched Homogeneous Compound Based on Lysine Units, *U.S. Pat. 4,289,872*, 1981.
- Hawker C.J. and Frechet J.M.J., The Convergent Synthesis of Dendritic Polyethers based on 3,5-dihydroxybenzyl Alcohol, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **112**, 7638-764, 1990.
- Tomalia D.A., Baker H., Dewald J., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., and Smith P., A New Class of Polymers: Starburst-Dendritic Macromolecules, *Polymer J.*, **17**, 117-132, 1985.
- Xu Z. and Moore J.S., Rapid Construction of Large-Size Phenylacetylene Dendrimers up to 12.5 Nanometers in Molecular Diameter, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **32**, 1354-1357, 1993.
- Newkome G.R., Zhongqi Y., Baker G.R., and Gupta V.K., Micelles. Part 1. Cascade Molecules: A New Approach to Micelles, *J. Org. Chem.*, **50**, 2003-2004, 1985.
- Liu M. and Frechet J.M.J., Designing of Dendrimers for Drug Delivery, *PSTT*, **2**, 393-401, 1991.
- Holister P., Roman Vas C., and Harper T., *Dendrimers Technology White Papers nr. 6*, Cientifica, India, 1-15, 2003.
- Thomas T., Huang B., Choi S., Silpe J., Kotlyar A., Desai A., Zong H., Gam J., Joice M., and Baker J., Polyvalent Dendrimer Methotrexate as a Folate Receptor-Targeted Cancer Therapeutic, *Mol. Pharm.*, **9**, 2669-2676, 2012.
- Soto-Castro D., Cruz-Morales J., Ramirez Apan M., and Guadarrama P., Solubilization and Anticancer-Activity Enhancement of Methotrexate by Novel Dendrimeric Nanodevices Synthesized in One-Step Reaction, *Bioorg. Chem.*, **41**, 13-21, 2012.
- Avila-Salas F., Sandoval C., Caballero J., Guinez-Molinos S., Santos L., Cachau R., and Gonzalez-Nilo F., Study of Interaction Energies between the PAMAM Dendrimer and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Using a Distributed Computational Strategy and Experimental Analysis by ESI-MS/MS, *J. Phys. Chem. B.*, **116**, 2031-2039, 2012.
- Sharma A., Prakash Gautam S., and Kumar Gupta A., Surface Modified Dendrimers: Synthesis and Characterization for Cancer Targeted Drug Delivery, *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 3341-3346, 2011.
- Huang B., Desai A., Zong H., Tang SH., Leroueil P., and Baker J. (Jr.), Copper-free Click Conjugation of Methotrexate to a PAMAM Dendrimer Platform, *Tetrahedron Lett.*, **52**, 1411-1414, 2011.
- Bielawski K., Bielawska A., Muszynska A., Poplaska B., and Czarnomys R., Cytotoxic Activity of G3 PAMAM-NH<sub>2</sub> Dendrimer-Chlorambucil Conjugate in Human Breast Cancer Cells, *Environ. Toxicol. Pharm.*, **23**, 364-372, 2011.
- Li M., Choi S., Thomas T., Desai A., Lee K., Kotlyar A., Banaszak Holl M., and Baker J. (Jr.), Dendrimer-based Multivalent Methotrexates as Dual Acting Nanoconjugates for Cancer Cell Targeting, *Eur. J. Med. Chem.*, **47**, 560-572, 2012.
- Yang K., Weng L., Cheng Y., Zhang H., Zhang J., Wu Q., and Xu T., Host-Guest Chemistry of Dendrimer-Drug Complexes. 6. Fully Acetylated Dendrimers as Biocompatible Drug Vehicles Using Dexamethasone 21- Phosphate as a Model Drug, *J. Phys. Chem. B.*, **115**, 2185-2195, 2011.
- Buczowski A., Sekowski S., Grala A., Palecz D., Milowska K., Urbaniak P., Gabryelak T., Piekarski H., and Palecz B.,

- Interaction between PAMAM-N2G4Dendrimer and 5-Fluorouracil in Aqueous Solution, *Int. J. Pharm.*, **408**, 266-270, 2011.
21. Chang Y., Meng X., Zhao Y., Li K., Zhao B., Zhu M., Li Y., Chen X., and Wang J., Novel Water-Soluble and pH-responsive Anticancer Drug Nanocarriers: Doxorubicin-PAMAM Dendrimer Conjugates Attached to Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (IONPs), *J. Colloid Interface Sci.*, **363**, 403-409, 2011.
  22. Mishra M.J., Kotta K., Hali M., Wykes S., Gerard H.C., Hudson A.P., Whittum-Hudson J.A., and Kannan R.M., PAMAM Dendrimer-Azithromycin Conjugate Nanodevices for the Treatment of Chlamydia Trachomatis Infections, *Nanomed-Nanotechnol., Biol. Med.*, **7**, 935-944, 2011.
  23. Bosnjakovic A., Mishra M., Ren W., Kurtoglu Y., Shi T., Fan D., and Kannan R., Poly(amidoamine) Dendrimer Erythromycin Conjugates for Drug Delivery to Macrophages Involved in Periprosthetic Inflammation, *Nanomed-Nanotechnol., Biol. Med.*, **7**, 284-294, 2011.
  24. Zhang Y., Thomas T., Lee K., Li M., Zong H., Desai A., Kotlyar A., Huang B., Banaszak Holl M., and Baker J. (Jr.), Polyvalent Saccharide-Functionalized Generation 3 Poly(amidoamine) Dendrimer-Methotrexate Conjugate as a Potential Anticancer Agent, *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 2557-2564, 2011.
  25. Zhang L., Zhu S., Qian L., Pei Y., Qiu Y., and Jiang Y., RGD-Modified PEG-PAMAM-DOX Conjugates: In Vitro and in Vivo Studies for Glioma, *Europ. J. Pharm. Biopharm.*, **79**, 232-240, 2011.
  26. Inapagolla R., Raja Guru B., Kurtoglu Y.E., Gao X., Lieh-Lai M., Bassett D.J.P., and Kannan R.M., In Vivo Efficacy of Dendrimer-Methylprednisolone Conjugate Formulation for the Treatment of Lung Inflammation, *Int. J. Pharm.*, **399**, 140-147, 2010.
  27. Lee H., Baker J. (Jr.), and Larson R., Molecular Dynamics Studies of the Size, Shape, and Internal Structure of 0% and 90%-Acetylated G5 PAMAM Dendrimers in Water and Methanol, *J. Phys. Chem. B.*, **110**, 4014-4019, 2006.
  28. Tanis I. and Karatasos K., Molecular Dynamics Simulations of Polyamidoamine Dendrimers and Their Complexes with Linear Poly(ethylene oxide) at Different pH Conditions: Static Properties and Hydrogen Bonding, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **11**, 10017-10028, 2009.
  29. Han M., Chen P., and Yang X., Molecular Dynamics Simulation of PAMAM Dendrimer in Aqueous Solution, *Polymer*, **46**, 3481-3488, 2005.
  30. Zhong T., Ai P., and Zhou J., Structures and Properties of PAMAM Dendrimer: A Multi-Scale Simulation Study, *Fluid Phase Equilib.*, **302**, 43-47, 2011.
  31. Ouyang D., Zhang H., Parekh H., and Smith S., The Effect of pH on PAMAM Dendrimer-siRNA Complexation-Endosomal Considerations as Determined by Molecular Dynamics Simulation, *Biophys. Chem.*, **158**, 126-133, 2011.
  32. Lee H., Choi J., and Larson R., Molecular Dynamics Studies of the Size and Internal Structure of the PAMAM Dendrimer Grafted with Arginine and Histidine, *Macromolecules*, **44**, 8681-8686, 2011.
  33. Maingi V., Venkata M., Kumar S., and Maiti P., PAMAM Dendrimer-Drug Interactions: Effect of pH on the Binding and Release Pattern, *J. Phys. Chem. B.*, **116**, 4370-4376, 2012.