

**Received:** 2008.07.24  
**Accepted:** 2008.12.22  
**Published:** 2008.12.30

## Dendrymery w naukach biomedycznych i nanotechnologii

### Dendrimers in biomedical sciences and nanotechnology

**Szymon Sękowski, Katarzyna Miłowska, Teresa Gabryelak**

Katedra Biofizyki Ogólnej, Instytut Biofizyki, Uniwersytet Łódzki

#### Streszczenie

Dendrymery są stosunkowo nowymi i wysoce rozgałęzionymi polimerami, mającymi wiele interesujących właściwości. Związki te mogą być wykorzystane m.in. jako: przenośniki leków i genów, czynniki kontrastujące czy wskaźniki różnych jonów metali. Kuliste cząsteczki tych polimerów odznaczają się również aktywnością farmakologiczną przeciwko różnym chorobom bakteryjnym i wirusowym. Obecnie dendrymery są intensywnie badane jako czynniki antyprionowe i zabezpieczające przed formowaniem się blaszek amyloidowych. Polimery te mogą być użyte do zbudowania specjalnych filmów dendrymerowych i zastosowane w nowoczesnych technologiach. W pracy opisano różne zastosowanie cząsteczek dendrymerów w naukach biomedycznych i nanotechnologii oraz wskazano na zalety wykorzystania wyżej wymienionych polimerów.

**Słowa kluczowe:** dendrymery • biomedycyna • nanotechnologia

#### Summary

Dendrimers are relatively new, hyper-branched polymers that have many interesting abilities. Dendrimers could be used, for example, as drug or gene carriers, contrast agents, sensors for different metal ions, and in developing innovation technology. These spherical polymers are also characterized by pharmacological activity against different bacterial and viral diseases. Dendrimers are currently being intensively investigated as anti-prion and anti-amyloid fibril agents. They can be used to build specific dendrimer films to be applied in modern technology. This review describes different uses of dendrimer particles in biomedical sciences and nanotechnology and shows advantages of their application.

**Key words:** dendrimers • biomedicine • nanotechnology

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=876503>

**Word count:** 3819

**Tables:** –

**Figures:** 3

**References:** 73

**Adres autora:** mgr Szymon Sękowski Katedra Biofizyki Ogólnej, Instytut Biofizyki, Uniwersytet Łódzki, ul. S. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: sekowski@biol.uni.lodz.pl

**Wykaz skrótów:** **DAB** – dendrymery polipropylenoiminowe z rdzeniem diaminobutanowym; **DOX** – dokсорubicyna; **EDA** – etylenodiamina; **5FU** – 5-fluorouracyl; **PAMAM** – dendrymery poliamidoaminowe; **PCI** – fotochemiczna internalizacja (photochemical internalization); **PPI** – dendrymery polipropylenoiminowe; **SMZ** – sulfametoksazol; **TRIS** – tris (hydroksymetylo)aminometan.

## WPROWADZENIE

Dendrymery to związki, których historia liczy już około 30 lat. Po raz pierwszy zostały zsyntetyzowane przez niemieckiego chemika Fritza Vögtla w 1978 roku [13], a następnie niezależnie przez zespół Donalda Tomalii i George'a F. Newkome'a [45,63]. Nazwa dendrymery pochodzi od greckiego słowa *dendron* oznaczającego drzewo. Inna nazwa tych związków to arborole (łac. *arbor* – drzewo) lub molekuly kaskadowe, jednak najczęściej używanym terminem jest nazwa dendrymer. Pod względem chemicznym dendrymery są to polimery cechujące się budową rozgałęzioną, trójwymiarową, o kształcie zbliżonym do kuli. W budowie strukturalnej dendrymerów można wyróżnić wielofunkcyjny rdzeń, od którego promieniście odchodzą „gałęzie” (ramiona) dendrymerów zwane dendronami. Na końcu dendronów znajdują się wolne grupy funkcyjne, które mogą być zmienione przez różnego rodzaju podstawniki modyfikujące właściwości chemiczne i fizyczne cząsteczki dendrymeru. Wyróżnia się dwa typy generacji dendrymerów: połowkowe (zakończone grupą karboksylową -COOH lub -COONa) i całkowite zawierające grupy aminowe -NH<sub>2</sub> lub hydroksylowe -OH. Swoista budowa dendrymerów jest przyczyną obecności w ich cząsteczkach wolnych przestrzeni, tzw. jam, które mogą być wykorzystane jako specyficzne rodzaje kieszenie, w których można umieścić różne cząsteczki. Ogólny schemat budowy dendrymeru przedstawiono na ryc. 1.

Im wyższa generacja dendrymerów tym większa gęstość upakowania w obszarze powierzchniowym tych cząsteczek, co w konsekwencji hamuje ich dalszy wzrost. Zjawisko to nosi nazwę „efektu Starburst” i prowadzi do tego, że cząsteczki dendrymerów mogą być syntetyzowane tylko do generacji 10. Wyróżnić można wiele rodzajów dendrymerów m.in.: poliamidoaminowe (PAMAM), polipropylenoiminowe (PPI), polieterowe, karbokrzemowe [31] zawierające różne rdzenie i monomery. Wraz ze wzrostem generacji rośnie średnica dendrymeru. Średnica generacji 2 (G2) dendrymerów PAMAM wynosi 2,0 nm, G3 = 3,1 nm, G4 = 4,0 nm, G5 = 5,3 nm, G6 = 6,7 nm, G7 = 8,0 nm [57]. Niektóre cząsteczki mają rozmiar zbliżony do czą-

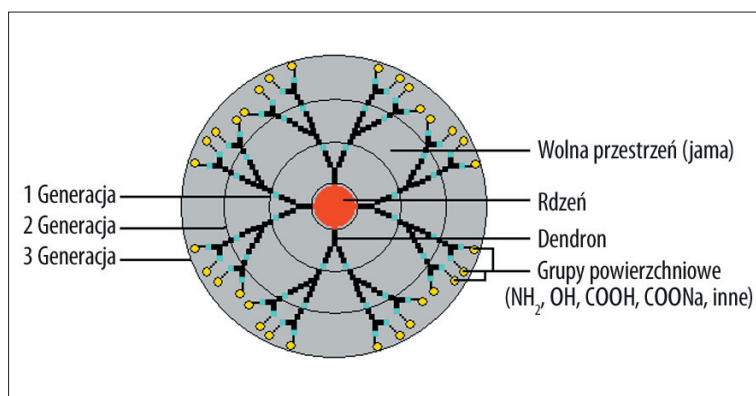
steček naturalnie występujących w organizmie np. dendrymer 3 generacji jest zbliżony wielkością do insuliny, czwartej generacji do cytochromu, a piątej do hemoglobiny. Najbardziej popularna grupa dendrymerów to dendrymery poliamidoaminowe, w budowie których można wyróżnić rdzeń w postaci amoniaku lub etylenodiaminy (EDA), do którego są przyłączane cząsteczki akrylanu metylu i etylenodiaminy. Dendrymery polipropylenoiminowe są syntetyzowane w wyniku podwójnej addycji Michaela (repetition of double Michael addition) akrylonitrylu do pierwszorzędowych amin. Reakcja zachodzi za pośrednictwem katalizy heterogenicznej i prowadzi do podwojenia liczby amin pierwszorzędowych. Następnie wykorzystywana jest cząsteczka etylenodiaminy jako rdzeń. Zamiast EDA często stosuje się również inne cząsteczki zawierające pierwszo- lub drugorzędowe grupy aminowe, np. 1,4-diaminobutan [11]. Dendrymery polieterowe są zbudowane na bazie pentaerytrytolu jako rdzenia i powtarzających się jednostek eteru pentaerytrylowego [48], natomiast w dendrymerach karbokrzemowych rdzeń stanowi atom krzemu [31].

## BIOMEDYCZNE ZASTOSOWANIE DENDRYMERÓW

### Dendrymery jako nośniki cząsteczek leków

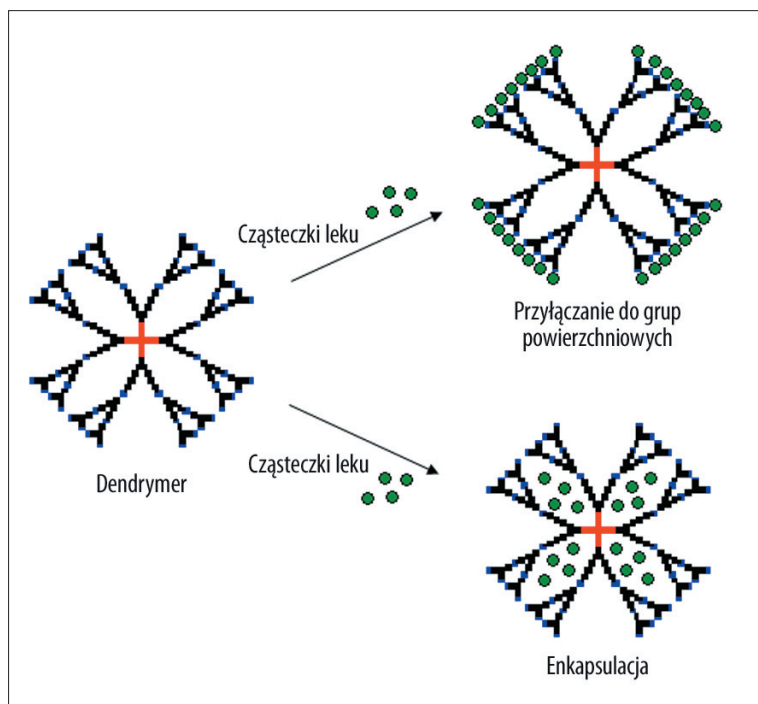
Dendrymery mogą być wykorzystane jako nośniki różnych małych molekuł wykazujących aktywność farmakologiczną. Cząsteczki te mogą być umieszczane na powierzchni dendrymeru (przyłączanie do grup powierzchniowych), albo w jego wnętrzu poprzez enkapsulację (zamykanie cząsteczek w jamach dendrymerów). Proces ten przedstawia ryc. 2.

Enkapsulacja dobrze znanego leku przeciwnowotworowego jakim jest cisplatyna wewnątrz cząsteczki dendrymeru PAMAM pozwala na uzyskanie koniugatów odznaczających się spowolnionym uwalnianiem leku, większą kumulacją w litym guzie i mniejszą toksycznością w porównaniu do samej cisplatyny [41]. Badania zespołu Lai [37] wykazały, że z dendrymerami PAMAM dobrze wiąże się dokсорubicyna (DOX) zwana też adriamycyną (ADR). Dokсорubicyna



Ryc. 1. Budowa dendrymeru





Ryc. 2. Przyłączenie cząsteczek leku do dendrymeru

jest lekiem przeciwnowotworowym zaliczonym do grupy antybiotyków antracyklinowych. W swych badaniach Lai wykorzystywał koniugaty amidowe (PAMAM-amid-DOX) i hydrazonowe (PAMAM-hyd-DOX) powstałe pomiędzy cząsteczką leku a cząsteczką dendrymeru. Wyniki badań wskazują, że dużo lepszy jest koniugat hydrazonowy, który ulega rozpadowi w środowisku kwaśnym i prowadzi do śmierci komórek linii Ca9-22 (ludzka linia raka dziąseł). Koniugat amidowy nie ulegał rozpadowi. Dodatkowo opracowano tzw. chemiczną internalizację (photochemical internalization, PCI) z zastosowaniem fotouczulacza w celu dostarczenia związków nieprzepuszczanych przez błonę pęcherzyka fagocytarnego do cytosolu. Naświetlanie po zastosowaniu PCI umożliwiało wydajne uwalnianie DOX z koniugatu PAMAM-hyd-DOX i przyczyniało się do większej akumulacji adriamycyny w jądrze komórkowym oraz większej śmiertelności komórek przez działanie synergistyczne. Obserwowano jednak i działanie antagonistyczne, gdy naświetlanie było prowadzone zanim zastosowano PCI. W przypadku koniugatu PAMAM-amid-DOX obie strategie PCI (naświetlanie przed i po zastosowaniu chemicznej internalizacji) nie skutkowały podniesieniem cytotoksyczności tego koniugatu. Obserwowano jego akumulację tylko w cytoplazmie. Inne badania wskazują, że polimery PAMAM zawierające 4, 8 i 16 terminalnych grup estrowych mogły być zmodyfikowane z wykorzystaniem tris(hydroksymetylo)aminometanu (TRIS) do cząsteczek zakończonych grupami hydroksylowymi w celu zmniejszenia ich cytotoksyczności. Takie dendrymery były zdolne do enkapsulacji małych cząsteczek o odczynie kwaśnym, takim jak np. kwas benzoesowy czy 2,6-dibromo-4-nitrofenolu odpowiednio w stosunku 1:1 i 2:1 (lek:dendrymer), jednak nie zaobserwowano tworzenia koniugatu z tiokonazolem (lekiem niemającym odczynu kwaśnego). Związki te były zatrzymywane w szczelinach dendrymerów przez wiązania wodorowe z wewnętrznymi sprotonowanymi grupami amidowymi. Odłączanie nastę-

powało dzięki protonacji grup amidowych w  $\text{pH} < 7$  [4]. Zespół Kukowskiej-Latallo [36] wykorzystał dendrymery PAMAM 5 generacji zakończone grupami aminowymi jako nośniki metotreksatu (lek przeciwnowotworowy). Grupy powierzchniowe zostały częściowo zmodyfikowane przez grupy acetylowe w celu zmniejszenia ładunku powierzchniowego. Acetylowane PAMAM były potem wzbogacone kwasem foliowym stanowiącym ligand dla komórek nowotworowych, fluoresceiną (stanowiącą fluorofor) i metotrekstatem. Po dożylnym podaniu myszom z podskórnym guzem ludzkiego nowotworu KB (linia raka naskórka), tak zmodyfikowanych dendrymerów, których kwas foliowy znakowany był radiacyjnie lub fluorescencyjnie, polimery te akumulowały się i były pobierane przez komórki nowotworu KB z nadekspresją receptorów kwasu foliowego. Stężenie tak „nacelowanych” dendrymerów w guzie było 5–10 razy wyższe w porównaniu z kontrolnymi (dendrymery bez ligandu w postaci kwasu foliowego). Podawanie podobnie zmodyfikowanych dendrymerów myszom będącym nosicielami podskórnego nowotworu KB spowodowało znaczącą redukcję wzrostu guza w stosunku do zwierząt, którym podawano sól fizjologiczną. Jednak mała średnica dendrymerów (około 5 nm) przyczyniała się do ich szybkiego usuwania z krwiobiegu i znaczącej utraty leku przez nerki. Acetylowane dendrymery były z powodzeniem wykorzystywane jako przenośniki 5-fluorouracylu (5FU) – związku wykazującego aktywność przeciwnowotworową [72]. Dendrymery są rozpuszczalne w wodzie i powstały kompleks PAMAM-5FU ulegał hydrolizie powoli uwalniając cząsteczki leku. Prowadziło to do zmniejszenia cytotoksyczności 5-fluorouracylu. Podobne właściwości mają dendrymery z przyłączonymi do powierzchni cząsteczkami karboksymetylopolietylenoglikolu 5000 (PEG<sub>5000</sub>) [5]. Tak zmodyfikowane dendrymery odznaczały się umiarkowaną enkapsulacją cząsteczek leku. Obserwowano zmniejszenie tempa uwalniania leku i spadek jego toksyczności hemolitycznej w porównaniu z dendrymerami, które nie miały

przyłączonych cząsteczek PEG<sub>5000</sub>. Badania wykazały, że z dendrymerami PAMAM może się łączyć nawet 78 cząsteczek ibuprofenu (leku przeciwbólowego). Koniugacja zachodziła pod wpływem oddziaływań elektrostatycznych między grupami aminowymi dendrymeru, a karboksylowymi cząsteczkami leku. Tak związany ibuprofen był bardzo dobrze transportowany przez cząsteczki dendrymerów do nabłonkowego raka płuc [34]. Ketoprofen, niesteroidowy lek przeciwbólowy jest dobrze poznanym farmaceutykiem pod względem właściwości przeciwgorączkowych, przeciwbólowych i przeciwoślepiowych. Niestety, wykazuje on słabą rozpuszczalność w wodzie i powoduje lokalne lub ogólnoustrojowe zaburzenia żołądkowo-jelitowe. Doświadczenia, w których użyto dendrymery PAMAM jako przenośniki cząsteczek ketoprofenu wykazały, że uwalnianie leku z koniugatu dendrymer–ketoprofen w warunkach *in vivo* prowadzi do podwyższenia stężenia ketoprofenu w osoczu badanych myszy (akumulacja samych cząsteczek leku w plazmie jest mniejsza). Badania oddziaływania niektórych leków antynocycetywnych z wykorzystaniem wyżej wymienionych zwierząt wykazały przedłużone działanie farmakodynamiczne koniugatu dendrymer–ketoprofen [43]. Badania Ma i wsp. [39] wykazały, że dendrymery mogą wspomóc trudno rozpuszczalny w wodzie sulfametoksazol (SMZ), lek odznaczający się właściwościami antibakteryjnymi przeciwko różnym szczepom bakteryjnym. Enkapsulacja SMZ do dendrymerów PAMAM odznaczających się rdzeniem etylenodiaminowym prowadzi do wzrostu jego aktywności antibakteryjnej i spowolnienia uwalniania leku. Wykazano ponadto, że wzrost rozpuszczalności sulfametoksazolu w wodzie był w przybliżeniu proporcjonalny do stężenia użytego dendrymeru (40-krotny wzrost rozpuszczalności w obecności 10 mg/ml dendrymeru PAMAM generacji 3 w porównaniu do rozpuszczalności leku w wodzie destylowanej w 37°C). Dendrymery generacji G3.5 i G4 przebadano pod kątem ich potencjalnego wykorzystania jako nośników dimetoksykurkuminy [42]. Dimetoksykurkumina jest lipofilowym analogiem kurkuminy, głównego barwnika indyjskiej przyprawy kurkumy (*Curcuma longa* Linn.), odznacza się znaczną aktywnością przeciwnowotworową. Dendrymery generacji G3.5 i G4 wykazują zdolność do tworzenia kompleksów z dimetoksykurkumina, aczkolwiek wydajność enkapsulacji jest mała. Związek ten we wszystkich przypadkach reagował w postaci enolowej, a jego oddziaływanie z dendrymerem 4 generacji wymagało przegrupowania terminalnych grup etylenoaminowych. Maksymalna wydajność molowa enkapsulacji lek-dendrymer wynosi 4,3 i 5,0 odpowiednio dla dendrymeru G3.5 i G4. Przeprowadzono również badania nad wykorzystaniem dendrymerów PAMAM jako cząsteczek nośnikowych dla azotanu pilokarpiny i tropikamidu [66], leków stosowanych w leczeniu okulistycznym. Doświadczenia na królikach służących jako model w badaniach *in vivo* pozwoliły stwierdzić, że zastosowanie dendrymerów zwiększało dostępność biologiczną cząsteczek leków zawartych w kroplach do oczu. Dodatkowo dendrymery umożliwiły wydłużenie czasu działania leku w rogówce.

### Dendrymery jako transportery genów

Wielu autorów donosi, że dendrymery mogą być wykorzystane jako nośniki różnego typu kwasów nukleinowych: plazmidów, pojedynczych nici DNA, oligonukle-

otydów czy nici RNA. Wyjątkową zdolność do wiązania wszystkich postaci kwasów nukleinowych mających jakiś ładunek powierzchniowy, polimery te zawdzięczają oddziaływaniom elektrostatycznym. Następnym powstawania kompleksów dendrymer–DNA jest wzrost wydajności transportu DNA, ochrona przeciwko zewnątrz- i wewnątrzkomórkowej degradacji, a także transgeniczna ekspresja w różnych liniach komórkowych ssaków w warunkach *in vitro* i w różnych tkankach zwierząt *in vivo* [8,22,35,50]. Powstawanie kompleksu dendrymer–DNA jest wynikiem ujemnie oddziaływania między ładunkami obu molekuł, o bardziej rozgałęzionej strukturze i elastyczności wydają się lepszymi przenośnikami genów. Najprawdopodobniej wynika to z tego, że mając większą elastyczność mogą formować bardziej zwarte kompleksy z DNA [25,61,73]. Co więcej, maksymalną wydajność transfekcji uzyskano dla dodatnio naładowanego kompleksu, tzn. kiedy występował nadmiar amin pierwszorzędowych nad grupami fosforanowymi pochodzącymi od DNA. Natura kompleksu dendrymer–DNA zależy nie tylko od stechiometrii, stężeń grup aminowych polimeru i fosforanowych DNA, ale też od właściwości rozpuszczalnika, tj. pH, siły buforującej, stężenia soli. Duża siła jonowa poprzez wzrost ilości NaCl oddziałuje na proces wiązania [29] oraz pomaga w ustaleniu się stanu równowagi [27]. Dendrymery PAMAM łączą się z DNA w stosunku stechiometrycznym 1:1 [62], aczkolwiek ten stosunek polimeru do kwasu nukleinowego niekoniecznie jest taki idealny i tak jak w przypadku innych systemów polimerowych bardziej stabilny i wydajny kompleks wykazuje tendencje do powstawania tylko wtedy, kiedy występuje większy stosunek polimeru do DNA. Wraz z każdorazowym wzrostem generacji rośnie liczba grup aminowych na powierzchni dendrymeru, które dwukrotnie lepiej wiążą się z DNA [19]. Niektóre badania wskazują także, że małe dendrymery PAMAM generacji 2 lepiej wiążą DNA od cząsteczek generacji 6 dlatego, że wykazują bardziej płynną strukturę. Natomiast dendrymery PPI wszystkich generacji dodane w wystarczającej ilości formują nierozpuszczalne w wodzie kompleksy z DNA [29]. Przyłączenie  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -cyklodekstryny do powierzchni dendrymeru PAMAM poprawia wydajność transfekcji, zwłaszcza gdy użyta zostanie  $\alpha$ -cyklodekstryna w stosunku 2,4:1 kowalencyjnie związana z powierzchnią dendrymeru generacji 3. Wydajność transfekcji była około 100-krotnie wyższa dla takiego kompleksu dendrymeru niż dla samego tylko polimeru i dla fizycznej mieszaniny pomiędzy dendrymerem a  $\alpha$ -cyklodekstryną [1]. Podobnie przyłączenie małych hydrofobowych cząsteczek, takich jak zieleń Oregon 488 (znacznik fluorescencyjny) do powierzchni dendrymeru skutkuje podobnym wzrostem wydajności transfekcji [69]. Fizyczne mieszanie zarówno liniowych, anionowych oligonukleotydów (sekwencji o długości między 6 a 55 zasad), jak i struktur szpilki do włosów z plazmidami przed dodaniem komercyjnie dostępnych produktów dendrymer PAMAM – zasa-da (tzw. SuperFect®) lub generacji 3–5 dendrymerów fos-

forowych było również badane podczas prób podniesienia wydajności transfekcji. Podczas gdy wydajność wzrastała wraz z długością oligonukleotydu do 36-merów, to konformacja oligomeru miała dużo mniejsze znaczenie [57]. Amfilowe dendrony dendrymerów PAMAM (Tomalia-type PAMAM dendrons) od generacji 1–4, były syntetyzowane z wykorzystaniem di-n-dodecyloaminy jako cząsteczki rdzeniowej. Oczekiwano, że hydrofobowy składnik będzie naśladować zdolności transfekcji błonowej naturalnego fosfolipidu tak jak dioleilofosfatydyloetanolamina i ułatwiać penetrację błonową. Taka konstrukcja pozwalała na uzyskanie kompleksów płytkowych po połączeniu z DNA. W przypadku dendronów generacji 2, 3 i 4 były one zdolne do przenikania przez błonę komórkową i wydajnego dostarczania DNA [59]. Transfer z cytoplazmy do jądra komórkowego jest momentem krytycznym procesu transfekcji. Badania z wykorzystaniem mikroskopu fluorescencyjnego i wyznakowanych dendrymerów sugerują, że dendrymery same w sobie mają zdolność do akumulacji w pewnych obszarach jądra komórkowego [26]. Bielinska i wsp. [35] wykazali, że kationowe dendrymery PAMAM były nie tylko zdolne do kompleksowania i dostarczania plazmidów DNA, ale też oligonukleotydów antysensowych. Co więcej, dendrymery PAMAM zostały wykorzystane do stworzenia linii komórkowych z ekspresją genu raportującego. Specjalne kompleksy dendrymer-plazmid-oligonukleotyd są tworzone i badane jako czynniki hamujące wzrost guza nowotworowego. Kompleks taki zawiera plazmid kodujący antyangiogeniczny peptyd – angiostatynę lub gen kodujący inhibitor tkankowy – metaloproteinazę (TIMP)-2 [52]. W transporcie genów bardzo pomocne mogą się okazać również dendrymery polipropylenoiminowe. Wykazano, że wykorzystanie generacji G1–4 tych związków charakteryzuje się dobrym stanem równowagi pomiędzy stabilnością kompleksu a toksycznością [54]. Dożylnie podanie leków genowych zawierających kompleks PPI generacji G3 prowadzi do indukcji ekspresji transgenu wewnątrz guza [22]. Dendrymery polilizynowe zawierające na powierzchni 64 lub 128 grup aminowych cechowały się wydajnością w transporcie genów w kilku hodowlanych liniach komórkowych, nie wykazując większej cytotoxyczności [47].

### Dendrymery a obrazowanie kliniczne

Wiele soli metali: (Gd(III)-DOTA), czyli Gd(III)-N,N',N'',N'''-tetrakarboksymetylo-1,4,7,10-tetrazacykloheksan, (Gd(III)-DTPA), czyli Gd(III)-dietylenotriamina kwasu pentaoctowego i ich pochodnych, wykazujących właściwości paramagnetyczne stosuje się jako czynniki obrazujące w badaniach rezonansem magnetycznym (magnetic resonance imaging, MRI) [21,28]. Niestety mała masa cząsteczkowa tych związków jest przyczyną ich krótkiego czasu krążenia w organizmie i mało efektywnej przenikliwości między tkanką zdrową i patologiczną. Próbowano więc połączyć te związki z biomedycznymi cząsteczkami, jak choćby z polisacharydami, kwasami poliaminowymi czy białkami. Takie kompleksy odznaczały się lepszą wydajnością w obrazowaniu krwi czy nowotworów w przypadku modeli zwierzęcych, niestety kliniczne zastosowanie tych kompleksów jest ograniczane przez ich powolne usuwanie. Wynikiem tego jest odkładanie się np. związków gadolinu w organizmie (głównie w wątrobie), co pociąga za sobą ryzyko potencjalnej toksyczności jonów tego me-

talum, uwalnianych podczas metabolizmu cząsteczek kontrastujących [16,24]. Badania z wykorzystaniem dendrymeru jako cząsteczki obciążającej i transportującej sole gadolinu dały bardzo obiecujące wyniki. Zespół Wienera [68] badał czynniki kontrastujące wykorzystujące dendrymery 2 i 6 generacji połączone z solami gadolinu. Zaobserwowano bardzo dobre obrazowanie MRI naczyń krwionośnych po podaniu tego czynnika królikom. Wyniki te potwierdzili Bryant i wsp. [12], którzy prowadzili badania z wykorzystaniem generacji 5, 7, 9 i 10. Innym przykładem jest wykorzystanie dendrytycznego kształtu cząsteczek do projektowania nowych i wydajnych czynników kontrastujących jakim jest Gadomer 17. Jego budowa jest podobna do linearnej cząsteczki Gd(III)-DTPA-polilizyny. Wykazuje jednak lepsze tempo eliminacji, co jest wynikiem jego globularnej struktury będącej pochodną dendrymeru [51]. Przeprowadzono także badania czasu klirensu czynników MRI zbudowanych na bazie dendrymerów i jonów gadolinu, pod kątem uwalniania się tego metalu z kompleksu. Sześć małych cząsteczek związków obrazujących, zostało zsyntetyzowanych na bazie dendrymerów PAMAM i PPI o rdzeniu diaminobutanowym (DAB) [33]. Zbadano ich aktywność farmakokinetyczną, czas retencji z organizmu i zdolność MRI. Związki na bazie DAB były szybciej usuwane z organizmu niż z PAMAM mających taką samą liczbę grup powierzchniowych. Wyniki tych badań pozwoliły stwierdzić, że generacja 2 PAMAM oraz generacja 2 i 3 DAB mogą być potencjalnymi czynnikami kontrastującymi w zastosowaniu klinicznym. Zaobserwowano także ciekawe zjawisko, jakim jest zmiana drogi usuwania dendrymerowego czynnika MRI w zależności od jego masy cząsteczkowej. Związki kontrastujące o masie poniżej 60 kDa były wydalane przez nerki, wskazując że takie czynniki mogą być potencjalnie projektowane i syntetyzowane pod kątem badań nerek. Hydrofilowe i większe, a tym samym mające większą masę cząsteczkową związki MRI mają lepsze zastosowanie w badaniu układu krwionośnego. Hydrofobowe odmiany dendrymerów polietylenoiminowych o rdzeniu diaminobutanowym pozwalały uzyskać czynniki kontrastujące do badania wątroby. Większe związki hydrofilowe były użyteczne w obrazowaniu limfatycznym. W końcu czynniki kontrastujące na bazie dendrymerów połączone dodatkowo z przeciwciałami monoklonalnymi lub awidyną były zdolne do pełnienia funkcji jako swoiste „markerowe kontrasty nowotworowe” [57]. Opracowano też dogodną metodę syntezy kompleksu Gd(III)-dendrymer polipropylenoiminowy zakończony grupami DTPA, wykazujący przestrajalną relaksację molekularną [38]. Alternatywnym podejściem jest wykorzystanie dendrymerów zawierających od czterech do dwunastu cząsteczek glukozy na powierzchni polimeru i jonów gadolinu (III) skoordynowanych z rdzeniem [58]. Dendrymery pozwalają na opracowanie związków wykorzystywanych również w tomografii komputerowej. Przykładem takiego związku jest, cząsteczka G-4-(DMAA-IPA)<sub>37</sub>, czyli kompleksu dendrymeru PAMAM G4 z resztami kwasu 3-N-[(N',N'-dimetyloaminoacetylo)amino]- $\alpha$ -etylo-2,4,6-trijodobenzenopropanowego. Duża procentowa zawartość jodu (33%) czyni z tego związku lepszy czynnik kontrastujący w badaniach z wykorzystaniem tomografu w porównaniu z małymi cząsteczkami jodu. Obraz uzyskany z zastosowaniem takiego kompleksu charakteryzuje się wysoką rozdzielczością przestrzenną. Istotny jest również dłuższy czas krążenia takiego czynnika pozwalający na wydłużenie

skali czasu obrazowania i potencjalne zredukowanie toksyczności, któremu może towarzyszyć ponowna iniekcja dużych dawek małych cząsteczek jodu [70].

### Inne zastosowania biomedyczne dendrymerów

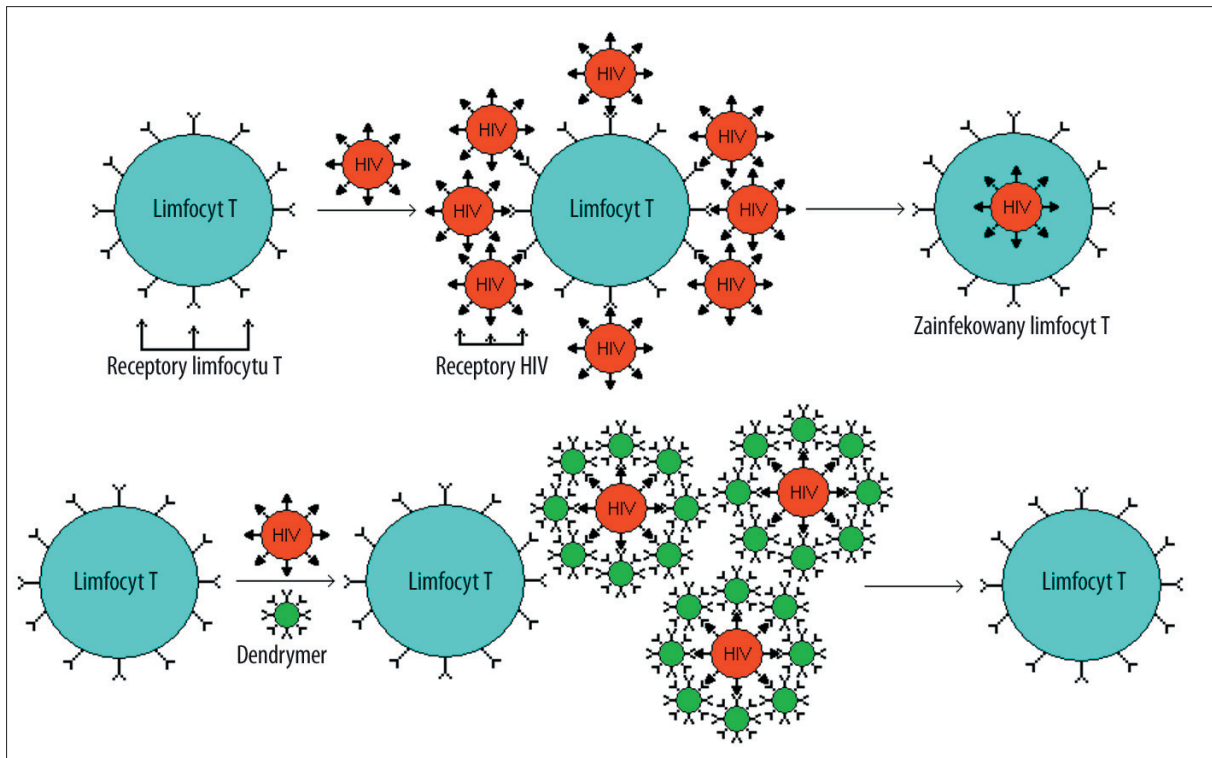
Jednym ze sposobów wykorzystania dendrymerów w medycynie może być użycie ich jako nośników cząsteczek srebra. Jak powszechnie wiadomo srebro wykazuje właściwości antybakteryjne. Wykorzystanie dendrymerów do stworzenia nanocząsteczek ma na celu podniesienie wydajności terapii z wykorzystaniem srebra. Kompleksy tego metalu z różnymi dendrymerami i różnej zawartości srebra były badane pod kątem zwalczania takich drobnoustrojów jak: *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty), *Pseudomonas aeruginosa* (pałeczka ropy błękitnej) i *Escherichia coli* (pałeczka okrężnicy). Obserwowano wzrost aktywności antybakteryjnej w przypadku soli z dendrymerami karboksylowymi, podczas gdy wszystkie roztwory azotanu srebra wykazywały mniejszą aktywność [2]. Przypuszcza się, że dendrymery mogą posłużyć także jako nowoczesna broń w biologii i medycynie zakażeń bakteryjnych. Głównym mechanizmem antybakteryjnego działania dendrymerów jest adhezja i uszkodzenia anionowej błony bakteryjnej wywołująca lizę komórkową [9,18]. Dendrymery polipropyleneoiminowe zawierające na powierzchni trzeciorzędowe grupy alkiloamionowe mogą stanowić potencjalne czynniki antybakteryjne zarówno przeciwko bakteriom Gram-dodatnim jak i Gram-ujemnym [17]. Polilizynowe dendrymery z przyłączonymi resztami mannozy są efektywnym inhibitorem adhezji komórek *Escherichia coli* do końskich komórek krwi, stanowiąc tym samym obiecujący związek antybakteryjny [44]. Chen i Cooper badali wpływ biocydów dendrymerowych na bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne [18]. W badaniach wykorzystywali dendrymery polipropyleneoiminowe sfunkcjonalizowane aminami czwartorzędowymi i błony bakteryjne. Okazało się, że bakterie mające błony komórkowe obdarzone ładunkiem ujemnym oddziaływały elektrostatycznie z dendrymerami niosącymi duży ładunek dodatni. Gdy cząsteczki dendrymerów zostały wprowadzone do zawiesiny bakterii, nastąpiło zainicjowanie procesu wypierania powierzchniowych, dwuwartościowych jonów wapnia i magnezu z błony komórki bakteryjnej i wiązanie się biocydu dendrymerowego do ujemnie naładowanych fosfolipidów błonowych. Prowadziło to do niewielkich zmian w przepuszczalności błony. Wiązanie to powoduje również natychmiastową neutralizację, a nawet odwrócenie ładunku bakterii. Na tym etapie zmiany w komórce bakterii są jeszcze odwracalne. Jeśli zostanie wprowadzona większa ilość biocydu, to względnie wysokie stężenie może spowodować denaturację białek błonowych i cząsteczki mogą rozpocząć penetrację dwuwarstwy błonowej. W tym miejscu dalszy wzrost przepuszczalności błony prowadzi do wycieku jonów potasu. Takie stężenie biocydu dendrymerowego odpowiada efektom bakteriostatycznym. Jeszcze większe stężenia tego związku powodują dalszą destabilizację struktury błony bakterii. Tak wysokie stężenia mogą prowadzić do całkowitej dezintegracji błony bakteryjnej, co w konsekwencji wywołuje efekt bakteriobójczy. Unikatowe właściwości biologiczne, chemiczne i fizyczne dendrymerów stwarzają możliwość opracowania leków na bazie dendrymerów, tzw. nanoleków. Polimery te mogą być wykorzystane jako leki przeciwnowotworowe w terapii foto-

dynamicznej (photodynamic therapy, PDT). Taki dendrymer musi być jednak odpowiednio skonstruowany. Jedną z metod jest synteza wokół rdzenia absorbującego światło (tj. porfiryny) [46], lub przyłączenie do powierzchni dendrymeru cząsteczek kwasu 5-aminolewulinowego jako fotouczulacza [3]. Z kolei polilizynowe dendrymery modyfikowane sulfonowanymi grupami naftylowymi okazały się użyteczne jako antywirusowe leki przeciwko wirusom opryszczki zwykłej (*herpes simplex virus*) [10]. Z wykorzystaniem dendrymerów powstał opracowany przez firmę Starpharma Ltd. (Melbourne, Australia) lek dla kobiet o nazwie VivaGel®. Jest on aktywnie badany pod kątem zastosowania go jako preparatu zabezpieczająco-redukującego przed zarażeniem wirusem HIV i innymi chorobami wirusowymi przenoszonymi drogą płciową. Głównym działaniem zabezpieczającym ze strony dendrymerów jest blokowanie receptorów na powierzchni wirusa HIV, odpowiedzialnych za adhezję do receptorów komórek limfocytów T. Opłaszczony przez cząsteczki dendrymerów PAMAM wirusy HIV z zablokowanymi receptorami, tracą zarówno możliwość połączenia się z limfocytom T jak i zdolności zakaźne [67]. Schemat takiego działania dendrymerów przedstawia ryc. 3.

Siałodendrymery wykazują właściwości inhibitora w procesie hemaglutynacji erytrocytów człowieka wywołanych przez wirus grypy. Pierwszym etapem w zainfekowaniu komórki przez wirus jest przyłączenie się wirionu do błony komórkowej. Adhezja następuje dzięki oddziaływaniu receptora hemaglutyninowego na powierzchni wirusa z grupami kwasu siałowego na powierzchni komórki [56]. Siałodendrymery wiążą się z hemaglutyniną, uniemożliwiając w ten sposób adhezję wirusów do komórek. Przyłączanie fragmentów kwasu  $\alpha$ -siałowego do powierzchni dendrymeru podnosi efekt terapeutyczny i pozwala cząsteczce polimeru osiągnąć większą aktywność inhibicyjną podczas infekcji grypy [71]. Działanie to wzrastało im więcej było grup kwasu siałowego na powierzchni cząsteczki dendrymeru. Obecnie trwają również badania nad wykorzystaniem dendrymerów w celu usuwania niektórych endogennych toksyn o charakterze hydrofobowym [53] oraz w celu ograniczenia cytotoksyczności powiązanych z chorobą Alzheimera i chorobami prionowymi niektórych peptydów amyloidowych [30].

### DENDRYMERY W NANOTECHNOLOGII I PRZEMYSŁE

Dendrymery oprócz wykorzystania w medycynie i naukach biomedycznych z powodzeniem stosuje się również w nanotechnologii i procesach przemysłowych. Polimery te mogą zostać wykorzystane do stworzenia specjalnych filmów dendrymerowych biorących udział w procesach galwanizacyjnych. Takie zastosowanie opisali Qian i Yang [49], którzy zaobserwowali, że elektrochemiczna produkcja nowych bimetalicznych (Au/Pd) nanostruktur może zachodzić z wykorzystaniem jako matrycy dendrymerów 4 generacji zakończonych grupami aminowymi. Polimery te tworzą bowiem wielowarstwową film dendrymerowy, który umożliwia powstawanie multiwarstwowej, dwumetalicznej nanostruktury. Opisana przez Qiana i Yanga metoda wyznacza nowy szlak w produkcji nowatorskich struktur w skali „nano” przez dendrymery stosowane jako matryca w procesie galwanizacji. Z kolei zespół Bustosa [14] wykorzystał dendrymery do usprawnienia detekcji w techni-



Ryc. 3. Działanie anti-HIV dendrymerów PAMAM

ce HPLC (high performance liquid chromatography), czyli wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Bustos wykorzystywał metodę HPLC w badaniach analitycznych dopaminy w próbkach moczu. Problemem było jednak oddziaływanie nie tylko oznaczanego neuroprzekaźnika, ale i innych składników próbki z detektorem elektrochemicznym HPLC, co sprawiało, że analizy były mniej efektywne. Aby uniknąć tego problemu detektor wyposażono w elektrodę modyfikowaną przez monowarstwę dendrymerów PAMAM. Polimery te swoiście oddziaływały z docelowymi molekułami i wykluczały ich oddziaływanie z powierzchnią elektrody. Metoda ta oparta jest na swoistych właściwościach dendrymerów do tworzenia cienkich porowatych filmów na powierzchni elektrody, mogących absorbować cząsteczki organiczne, ale jednocześnie blokować niepożądaną adsorpcję do powierzchni substratów [15,40]. Co więcej, zespół Bustosa wykazał, że elektrody szklano-węglowe modyfikowane kompozytami dendrymerów i nanocząsteczek metalicznych, osiągały bardzo dobre wyniki w detekcji dopaminy zarówno w próbkach syntetycznych jak i klinicznych. Podobne badania przeprowadzili Tang i wsp. [60]. Zaprezentowali nowy biopskaźnik amperometryczny, którego budowa opiera się na nanorurkach węglowych budowanych przez elektrostatyczne i/lub kowalencyjne autoskładanie warstw kompleksu Pt – PAMAM (platyna – PAMAM) i dehydrogenazy glutaminianowej na powierzchni nanorurek. Tak budowany, warstwa po warstwie, wskaźnik wykazywał dobrą powtarzalność, stabilność i wysoką czułość. Efektywnie zabezpieczał aktywność cząsteczek enzymu i chronił przed jego wyciekaniem. Dendrymery mogą być także wykorzystane jako cząsteczki katalityczne [64] i to zarówno w przypadku katalizy homogenicznej jak i heterogenicznej. Katalizatory homogeniczne są efektywne z powodu łatwego dostępu strony

aktywnej, ale trudno je wyłączyć ze „strumienia reakcji”. Z kolei katalizatory heterogenne są łatwo usuwalne, ale kinetyka reakcji jest limitowana przez transport masowy. Dendrymery mają wielofunkcyjną powierzchnię i wszystkie miejsca katalityczne są zawsze wyeksponowane w stronę mieszaniny reakcyjnej. Mogą być one także wykorzystane do usunięcia przez wykorzystanie techniki ultrafiltracji. Pierwsze takie zastosowanie dendrymerów jako czynników katalitycznych opisał już w 1994 r. van Koten [32]. Zespół van Kotena zakańczal dendrymery polikarbokrzemowe kompleksami diaminoaryloniklowymi (II). Tak skonstruowane dendrymery były wykorzystywane w reakcjach polihaloalkanów. Polimery te mogą być także wykorzystane jako swoistego rodzaju reaktywne substraty służące do syntezy nowego rodzaju, wysoce złożonych, o kontrolowanej strukturze kompleksów określanych mianem „megamerów”[65].

#### PODSUMOWANIE

Dendrymery to polimery o bardzo ciekawej strukturze i unikatowych właściwościach. W artykule przedstawiono te związki jako cząsteczki o szerokim zastosowaniu, a sprawdzające się doskonale w naukach medycznych, biomedycznych, nanotechnologii i nowoczesnych technologiach przemysłowych. Należy jednak zaznaczyć, że wiele potencjalnych zastosowań dendrymerów jest nadal w fazie intensywnych badań, jak choćby zastosowanie ich w medycynie. Do końca bowiem nie wiadomo jaki jest metabolizm tych polimerów, gdyby przyjmować je np. w postaci leków doustnych i jaki mogą mieć wpływ metabolity dendrymerów na komórki, tkanki i narządy. Badania nad dendrymerami trwają i są prowadzone bardzo intensywnie. Względnie nowe są prace poświęcone zastosowaniu

dendrymerów w nanotechnologii np. do tworzenia filmów dendrymerowych o ciekawych właściwościach i wielorakim zastosowaniu. Prężnie rozwijające się innowacyjne ga-

łęzie nanotechnologii i nanomedycyny stanowią szerokie pole do poszukiwania coraz to nowych zastosowań polimerów kulistych jakimi są dendrymery.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Arima H., Kihara F., Hirayama F., Uekama K.: Enhancement of gene expression by polyamidoamine dendrimer conjugates with  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -cyclodextrins. *Bioconjug. Chem.*, 2001; 12: 476–484
- [2] Balogh L., Bielinska A., Eichman J.D., Valluzzi R., Lee I., Baker J.R., Lawrence T.E., Khan M.K.: Dendrimer nanocomposites in medicine. *Chimica Oggi/Chemistry Today*, 2002; 20: 35–40
- [3] Battah S.H., Chee C.E., Nakanishi H., Gerscher S., MacRobert A.J., Edwards C.: Synthesis and biological studies of 5-aminolevulinic acid-containing dendrimers for photodynamic therapy. *Bioconjug. Chem.*, 2001; 12: 980–988
- [4] Beezer A.E., King A.S., Martin I.K., Mitchell J.C., Twyman L.J., Wain C.F.: Dendrimer as potential drug carriers: encapsulation of acidic hydrophobes within water soluble PAMAM derivatives. *Tetrahedron*, 2003; 59: 3873–3880
- [5] Bhadra D., Bhadra S., Jain S., Jain N.K.: A PEGylated dendritic nanoparticulate carrier of fluorouracil. *Int. J. Pharm.*, 2003; 257: 111–124
- [6] Bielinska A.U., Chen C., Johnson J., Baker J.R. Jr.: DNA complexing with polyamidoamine dendrimers: implications for transfection. *Bioconjug. Chem.*, 1999; 10: 843–850
- [7] Bielinska A.U., Kukowska-Latallo J.F., Baker J.R.Jr.: The interaction of plasmid DNA with polyamidoamine dendrimers: mechanism of complex formation and analysis of alterations induced in nuclease sensitivity and transcriptional activity of the complexed DNA. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1997; 1353: 180–190
- [8] Bielinska A., Kukowska-Latallo J.F., Johnson J., Tomalia D.A., Baker J.R. Jr.: Regulation of *in vitro* gene expression using antisense oligonucleotides or antisense expression plasmids transfected using starburst PAMAM dendrimers. *Nucleic Acids Res.*, 1996; 24: 2176–2182
- [9] Boas U., Heegaard P.M.: Dendrimers in drug research. *Chem. Soc. Rev.*, 2004; 33: 43–63
- [10] Bourne N., Stanberry L.R., Kern E.R., Holan G., Matthews B., Bernstein D.I.: Dendrimers, a new class of candidate topical microbicides with activity against herpes simplex virus infection. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2000; 44: 2471–2474
- [11] Brabander-van den Berg E.M., Meijer E.W.: Poly(propylene imine) dendrimers: large scale synthesis by heterogeneously catalyzed hydrogenation. *Angew Chem Int Ed Engl.*, 1993; 32: 1308–1311
- [12] Bryant L.H.Jr., Brechbiel M.W., Wu C., Bulte J.W., Herynek V., Frank J.A.: Synthesis and relaxometry of high-generation (G = 5, 7, 9, and 10) PAMAM dendrimer-DOTA-gadolinium chelates. *J. Magn. Reson. Imaging.*, 1999; 9: 348–352
- [13] Buhleier E., Wehner W., Vögtl F.: „Cascade“ and „Nonskid-Chainlike“ syntheses of molecular cavity and topologies. *Synthesis*, 1978; 2: 155–158
- [14] Bustos E.B., Jimenez M.G., Díaz-Sánchez B.R., Juaristi E., Chapman T.W., Godínez L.A.: Glassy carbon electrodes modified with composites of starburst-PAMAM dendrimers containing metal nanoparticles for amperometric detection of dopamine in urine. *Talanta*, 2007; 72: 1586–1592
- [15] Bustos E., Manríquez J., Orozco G., Godínez L.A.: Preparation, characterization, and electrocatalytic activity of surface anchored, Prussian Blue containing starburst PAMAM dendrimers on gold electrodes. *Langmuir*, 2005; 21: 3013–3021
- [16] Caravan P., Ellison J.J., McMurry T.J., Lauffer R.B.: Gadolinium (III) chelates as MRI contrast agents: structure, dynamics, and applications. *Chem. Rev.*, 1999; 99: 2293–2352
- [17] Chen C.Z., Beck-Tan N.C., Dhurjati P., van Dyk T.K., LaRossa R.A., Cooper S.L.: Quaternary ammonium functionalized poly(propylene imine) dendrimers as effective antimicrobials: structure-activity studies. *Biomacromolecules*, 2000; 1: 473–480
- [18] Chen C.Z., Cooper S.L.: Interactions between dendrimer biocides and bacterial membranes. *Biomaterials*, 2002; 23: 3359–3368
- [19] Chen W., Turro N.J., Tomalia D.A.: Using ethidium bromide to probe the interactions between DNA and dendrimers. *Langmuir*, 2000; 16: 15–19
- [20] Dass C.R.: Vehicles for oligonucleotide delivery to tumours. *J. Pharm. Pharmacol.*, 2002; 54: 3–27
- [21] Doubrovin M., Serganova I., Mayer-Kuckuk P., Ponomarev V., Blasberg R.G.: Multimodality *in vivo* molecular-genetic imaging. *Bioconjug. Chem.*, 2004; 15: 1376–1388
- [22] Dufes C., Keith W.M., Proutski I., Bilsland A., Uchegbu I.F., Schätzlein A.G.: Synergistic anti-cancer gene medicine exploits intrinsic anti-tumour activity of cationic vector to cure established tumors. *Cancer Res.*, 2005; 65: 8079–8084
- [23] Eichman J.D., Bielinska A.U., Kukowska-Latallo J.F., Baker J.R.Jr.: The use of PAMAM dendrimers in the efficient transfer of genetic material into cells. *Pharm. Sci. Technol. Today*, 2000; 3: 232–245
- [24] Franano F.N., Edwards W.B., Welch M.J., Brechbiel M.W., Gansow O.A., Duncan J.R.: Biodistribution and metabolism of targeted and nontargeted protein-chelate-gadolinium complexes: evidence for gadolinium dissociation *in vitro* and *in vivo*. *Magn. Reson. Imaging*, 1995; 13: 201–214
- [25] Gebhart C.L., Kabanov A.V.: Evaluation of polyplexes as gene transfer agents. *J. Control. Release*, 2001; 73: 401–416
- [26] Godbey W.T., Wu K.K., Mikos A.G.: Tracking the intracellular path of poly(ethyleneimine)/DNA complexes for gene delivery. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 5177–5181
- [27] Goula D., Remy J.S., Erbacher P., Wasowicz M., Levi G., Abdallah B., Demeneix B.A.: Size, diffusibility and transfection performance of linear PEI/DNA complexes in the mouse central nervous system. *Gene Ther.*, 1998; 5: 712–717
- [28] Hay B.P., Werner E.J., Raymond K.N.: Estimating the number of bound water in Gd(III) complexes revisited. Improved methods for the prediction of q-values. *Bioconjug. Chem.*, 2004; 15: 1496–1502
- [29] Kabanov V.A., Sergeev V.G., Pyshkina O.A., Zinchenko A.A., Zezin A.B., Joosten J.G.H., Brackman J., Yoshikawa K.: Interpolyelectrolyte complexes formed by DNA and astramol poly(propylene imine) dendrimers. *Macromolecules*, 2000; 33: 9587–9593
- [30] Klajnert B., Cortijo-Arellano M., Bryszewska M., Cladera J.: Influence of heparin and dendrimers on the aggregation of two amyloid peptides related to Alzheimer's and prion diseases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006; 339: 577–582
- [31] Klajnert B., Przygodzki T.: Dendrymery w zastosowaniach terapeutycznych. *Post. Biochem.*, 2003; 49: 290–297
- [32] Knapen J.W., van der Made A.W., de Wilde J.C., van Leeuwen P.W., Wijkens P., Grove D.M., van Koten G.: Homogeneous catalysts based on silane dendrimers functionalized with arylnickel(II) complexes. *Nature*, 1994; 372: 659–663
- [33] Kobayashi H., Kawamoto S., Jo S.K., Bryant H.L.Jr., Brechbiel M.W., Star R.A.: Macromolecular MRI contrast agents with small dendrimers: pharmacokinetic differences between sizes and cores. *Bioconjug. Chem.*, 2003; 14: 388–394
- [34] Kolhe P., Misra E., Kannan R.M., Kannan S., Lieh-Lai M.: Drug complexation *in vitro* release and cellular entry of dendrimers and hyperbranched polymers. *Int. J. Pharm.*, 2003; 259: 143–160
- [35] Kukowska-Latallo J.F., Bielinska A.U., Johnson J., Spindler R., Tomalia D.A., Baker J.R. Jr.: Efficient transfer of genetic material into mammalian cells using Starburst polyamidoamine dendrimers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 4897–4902
- [36] Kukowska-Latallo J.F., Candido K.A., Cao Z., Nigavekar S.S., Majoros I.J., Thomas T.P., Balogh L.P., Khan M.K., Baker J.R. Jr.: Nanoparticle targeting of anticancer drug improves therapeutic response in animal model of human epithelial cancer. *Cancer Res.*, 2005; 65: 5317–5324
- [37] Lai P.S., Lou P.J., Peng C.L., Pai C.L., Yen W.N., Huang M.Y., Young T.H., Shieh M.J.: Doxorubicin delivery by polyamidoamine dendrimer conjugation and photochemical internalization for cancer therapy. *J. Control. Release*, 2007; 122: 39–46
- [38] Langereis S., de Lussanet Q.G., van Genderen M.H.P., Backes W.H., Meijer E.W.: Multivalent contrast agents based on gadolinium-diethylenetriaminepentaacetic acid-terminated poly(propylene imine) dendrimers for magnetic resonance imaging. *Macromolecules*, 2004; 37: 3084–3091



- [39] Ma M., Cheng Y., Xu Z., Xu P., Qu H., Fang Y., Xu T., Wen L.: Evaluation of polyamidoamine (PAMAM) dendrimers as drug carriers of anti-bacterial drugs using sulfamethoxazole (SMZ) as a model drug. *Eur. J. Med. Chem.*, 2007; 42: 93–98
- [40] Maeda H., Katayama K., Matsui R., Yamauchi Y., Ohmori H.: Surface improvement of glassy carbon electrode anodized in triethylene glycol and its application to electrochemical HPLC analysis of protein-containing samples. *Anal. Sci.*, 2000; 16: 293–298
- [41] Malik N., Evagorou E.G., Duncan R.: Dendrimer-platinate: a novel approach to cancer chemotherapy. *Anticancer Drugs*, 1999; 10: 767–776
- [42] Markatou E., Gionis V., Chryssikos G.D., Hatziantoniou S., Georgopoulos A., Demetzos C.: Molecular interactions between dimethoxycurcumin and Pamam dendrimer carriers. *Int. J. Pharm.*, 2007; 339: 231–236
- [43] Na M., Yiyun C., Tongwen X., Yang D., Xiaomin W., Zhenwei L., Zhichao C., Guanyi H., Yunyu S., Longping W.: Dendrimers as potential drug carriers. Part II. Prolonged delivery of ketoprofen by *in vitro* and *in vivo* studies. *Eur. J. Med. Chem.*, 2006; 41: 670–674
- [44] Nagahori N., Lee R.T., Nishimura S., Page D., Roy R., Lee Y.C.: Inhibition of adhesion of type 1 fimbriated *Escherichia coli* to highly mannosylated ligands. *ChemBioChem*, 2002; 3: 836–844
- [45] Newkome G.R., Yao Z.Q., Baker G.R., Gupta V.K.: Cascade molecules: A new approach to micelles, A[27]-arborol. *J. Org. Chem.*, 1985; 50: 2003–2006
- [46] Nishiyama N., Stapert H.R., Zhang G.D., Takasu D., Jiang D.L., Nagano T., Aida T., Kataoka K.: Light-harvesting ionic dendrimer porphyrins as a new photosensitizers for photodynamic therapy. *Bioconjug. Chem.*, 2003; 14: 58–66
- [47] Ohsaki M., Okuda T., Wada A., Hirayama T., Niidome T., Aoyagi H.: *In vitro* gene transfection using dendritic poly(L-lysine). *Bioconjug. Chem.*, 2002; 13: 510–517
- [48] Padias A.B., Hall H.K.Jr., Tomalia D.A., McConnell J.R.: Starburst polyether dendrimers. *J. Org. Chem.*, 1987; 52: 5305–5312
- [49] Qian L., Yang X.: Dendrimer films as matrices for electrochemical fabrication of novel gold/palladium bimetallic nanostructures. *Talanta*, 2008; 74: 1649–1653
- [50] Qin L., Pahud D.R., Ding Y., Bielinska A.U., Kukowska-Latallo J.F., Baker J.R.Jr., Bromberg J.S.: Efficient transfer of genes into murine cardiac grafts by Starburst polyamidoamine dendrimers. *Hum. Gene Ther.*, 1998; 9: 553–560
- [51] Roberts H.C., Saeed M., Roberts T.P., Mühler A., Brasch R.C.: MRI of acute myocardial ischemia: comparing a new contrast agent, Gd-DTPA-24-cascade-polymer, with Gd-DTPA. *J. Magn. Reson. Imaging*, 1999; 9: 204–208
- [52] Sato N., Kobayashi H., Saga T., Nakamoto Y., Ishimori T., Togashi K., Fujibayashi Y., Konishi J., Brechbiel M.W.: Tumor targeting and imaging of intraperitoneal tumors by use of antisense oligo-DNA complexed with dendrimers and/or avidin in mice. *Clin. Cancer Res.*, 2001; 7: 3606–3612
- [53] Shcharbin D., Bryszewska M.: Complex formation between endogenous toxin bilirubin and polyamidoamine dendrimers: A spectroscopic study. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006; 1760: 1021–1026
- [54] Schatzlein A.G., Zinselmeyer B.H., Elouzi A., Dufes C., Chim Y.T., Roberts C.J., Davies M.C., Munro A., Gray A.I., Uchegbu I.F.: Preferential liver gene expression with polypropyleneimine dendrimers. *J. Control. Release*, 2005; 101: 247–258
- [55] Shah D.S., Sakthivel T., Toth I., Florence A.T., Wilderspin A.F.: DNA transfection and transfected cell viability using amphipathic asymmetric dendrimers. *Int. J. Pharm.*, 2000; 208: 41–48
- [56] Sigal G.B., Mammen M., Dahmann G., Whitesides G.M.: Polyacrylamides bearing pendant alpha-sialoside groups strongly inhibit agglutination of erythrocytes by influenza virus: The strong inhibition reflects enhanced binding through cooperative polyvalent interactions. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996; 118: 3789–3800
- [57] Svenson S., Tomalia D.A.: Dendrimers in biomedical applications – reflections on the field. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2005; 57: 2106–2129
- [58] Takahashi M., Hara Y., Aoshima K., Kurihara H., Oshikawa T., Yamashita M.: Utilization of dendritic framework as a multivalent ligand: a functionalized gadolinium (III) carrier with glycoside cluster periphery. *Tetrahedron Lett.*, 2000; 41: 8485–8488
- [59] Takahashi T., Kono K., Itoh T., Emi N., Takagishi T.: Synthesis of novel cationic lipids having polyamidoamine dendrons and their transfection activity. *Bioconjug. Chem.*, 2003; 14: 764–773
- [60] Tang L., Zhu Y., Xu L., Yang X., Li C.: Amperometric glutamate biosensor based on self-assembling glutamate dehydrogenase and dendrimer-encapsulated platinum nanoparticles onto carbon nanotubes. *Talanta*, 2007; 73: 438–443
- [61] Tang M.X., Szoka F.C.: The influence of polymer structure on the interactions of cationic polymers with DNA and morphology of the resulting complexes. *Gene Ther.*, 1997; 4: 823–832
- [62] Tomalia D.A.: Architecturally driven properties based on the dendritic state. *High Perform. Polym.*, 2001; 13: 1–10
- [63] Tomalia D.A., Baker H., Dewald J.R., Hall M., Kallos G., Martin S., Roeck J., Ryder J., Smith P.: A new class of polymers: Starburst-dendritic macromolecules. *Polym. J.*, 1985; 17: 117–132
- [64] Tomalia D.A., Dvornic P.R.: What promises for dendrimers? *Nature*, 1994; 372: 617–618
- [65] Tomalia D.A., Uppuluri S., Swanson D.R., Li J.: Dendrimers as reactive modules for the synthesis of new structure-controlled, higher-complexity megamers. *Pure Appl. Chem.*, 2000; 72: 2343–2358
- [66] Vandamme T.F., Brobeck L.: Poly(amidoamine) dendrimers as ophthalmic vehicles for ocular delivery of pilocarpine nitrate and tropicamide. *J. Control. Release*, 2005; 102: 23–38
- [67] VivaGel™: in trials now to meet an urgent medical need. <http://www.starpharma.com/data/STARPHARMA%20-%20VivaGel%20flyer.pdf> (23.12.2008)
- [68] Wiener E.C., Auteri E.P., Chen J.W., Brechbiel M.W., Gansow O.A., Schneider D.S., Belford R.L., Clarkson R.B., Lauterbur P.C.: Molecular dynamics of ion-chelate complexes attached to dendrimers. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996; 118: 7774–7782
- [69] Yoo H., Juliano R.L.: Enhanced delivery of antisense oligonucleotides with fluorophore-conjugated PAMAM dendrimers. *Nucleic Acids Res.*, 2000; 28: 4225–4231
- [70] Yordanov A.T., Lodder A.L., Woller E.K., Cloninger M.J., Patronas N., Milenic D., Brechbiel M.W.: Novel iodinated dendritic nanoparticles for computed tomography (CT) imaging. *Nano Lett.*, 2002; 2: 595–599
- [71] Zanini D., Roy R.: Practical synthesis of Starburst PAMAM alpha-thiosialodendrimers for probing multivalent carbohydrate-lectin binding properties. *J. Org. Chem.*, 1998; 63: 3486–3491
- [72] Zhuo R.X., Du B., Lu Z.R.: *In vitro* release of 5-fluorouracil with cyclic core dendritic polymer. *J. Controlled Release*, 1999; 57: 249–257
- [73] Zinselmeyer B.H., Mackay S.P., Schatzlein A.G., Uchegbu I.F.: The lower-generation polypropyleneimine dendrimers are effective gene-transfer agents. *Pharm. Res.*, 2002; 19: 960–967