

树状大分子作为新型药物载体的研究进展

郑 畅, 乔明曦, 鄢 璐, 胡海洋, 陈大为*

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 树状大分子是一类高度枝化的单分散性大分子, 其内部结构呈疏水性, 外表面呈亲水性, 可称为“单分子胶束”。本文在简介树状大分子的发展及结构特点的基础上, 阐述了树状大分子作为药物载体的作用特点及其与药物的结合方式。目前, 树状大分子在介导药物靶向传递及基因转染等方面的应用也备受关注, 是一种颇有发展潜力的新型载体。

关键词: 树状大分子; 药物载体; 基因载体

中图分类号: R943.4 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2007)09 - 0924 - 06

Recent advances in the study of dendrimers-based drug delivery systems

ZHENG Chang, QIAO Ming-xi, YAN Lu, HU Hai-yang, CHEN Da-wei†

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Dendrimers are hyperbranched, monodisperse and three dimensional macromolecules, which consist of an apolar core and polar shell have been referred to as “unimolecular micelles”. This paper briefly describes the development and structural characteristics of dendrimers and also explains the feature of dendrimers as drug carrier and the dendrimer-drug interactions in details. Recently, dendrimers, which have attracted increasing attention for their applications in many fields such as drug targeted delivery systems and gene transfection, are becoming potential novel carriers.

Key words: dendrimer; drug carrier; gene carrier

1 树状大分子简介

树状大分子(dendrimers)又可称为树状聚合物或树状高分子。1952年, Flory首次提出由单体 AB_n 来制备高度枝化大分子的可能性, 并由Vögtle于1978年首次合成了树状大分子。直到1985年Tomalia等成功合成了聚酰胺胺(polyamidoamine, PAMAM)树状大分子后, 树状大分子才真正引起了人们的关注, 并在材料科学、生物医药等诸多领域如纳米级催化剂、纳米级药物及基因载体、核磁共振造影剂等得到了日益广泛的研究与应用。

树状大分子是高度枝化的单分散大分子, 其分子结构由中心核、重复单元以及末端基团构成, 具有

高度的几何对称性^[1]。常见的中心核有氨、乙二醇、季戊四醇、芳环结构和糖苷结构等, 以中心核为起始中心, 由两种反应单体交替在外面接枝, 每完成两步反应增长一代(Generation, 简称G)。一般来说, 低代数的树状大分子是开放的结构, 但随着代数的增长, 其整体结构逐渐呈现球形, 内部存在空腔。树状大分子的分子结构中包括非极性的核和极性的外壳, 内部结构呈疏水性, 外表面呈亲水性, 故又被称为“单分子胶束”。与传统胶束不同的是, 其树枝状结构不依赖于溶液浓度, 即无临界胶束浓度^[2-4]。与直链聚合物相比, 树状大分子有诸多优点, 例如, 其可控的多价性可以使一些药物分子、靶向基团及增溶基团以确定的方式附着在其外周; 其单分散性使其药物代谢动力学行为的重现性良好。

目前, 常见的树状大分子有聚乙烯亚胺(PEI), PAMAM, 树状物(arborols), 硅烷树状大分子及其他

收稿日期: 2007-02-27.

* 通讯作者 Tel: 86 - 24 - 23986308, Fax: 86 - 24 - 23986375,
E-mail: cdw2002yd@sina.com

类型如聚芳醚结构的树状大分子等。其中 PAMAM 树状大分子是研究及应用最为广泛的一类树状大分子,其分子大小、代数可由 Michael 加成和酰胺化反应的重复次数加以控制,其合成路线主要有两步:①以氨、乙二胺或丙胺等为核,与丙烯酸甲酯进行 Michael 加成反应,得到半代的 PAMAM 树状大分子;②用半代树状大分子与过量的乙二胺进行酰胺化反应得到整代的 PAMAM 树状大分子($G = 0, 1.0, 2.0, \dots$)^[5](图 1)。树状大分子是一种真正意义上的纳米级分子, $G_{2.0} \sim G_{7.0}$ PAMAM 树状大分子的直径介于 $2.0 \sim 8.0 \text{ nm}$ ^[6]。在生理条件下, PAMAM 树状大分子末端 $-\text{NH}_2$ 可以完全质子化成为带正电荷的 $-\text{NH}_3^+$, 表面正电荷密度很高。

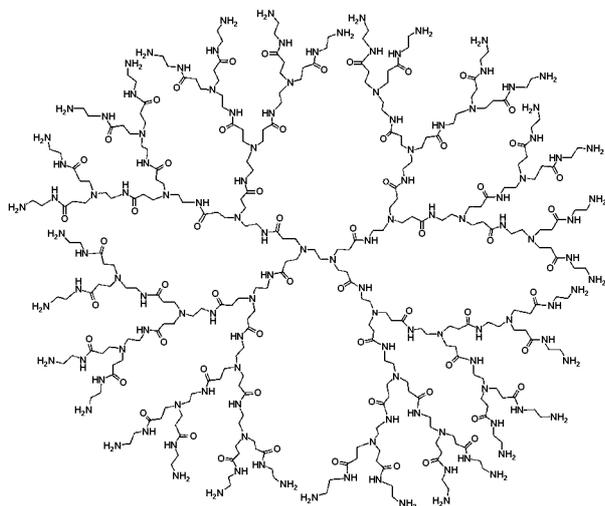


图 1 以乙二胺为核的 $G_{3.0}$ PAMAM 树状大分子的结构

2 树状大分子与药物的结合方式

树状大分子可作为新型药物载体与药物形成纳米级微粒给药系统,其与药物的结合方式可分为两种:1)药物结合于树状大分子的内部结构中(包括静电作用、疏水作用以及氢键作用),可称为包合物;2)药物结合在树状大分子表面(静电作用及化学键合),可称为复合物。

2.1 药物结合于树状大分子内部

树状大分子内部结构具有巨大的疏水空腔,可包裹药物分子,这种包含可以看作是一种简单的物理包埋,即药物分子与树状大分子之间为非化学键合的相互作用。Hawker 等^[4]合成了末端为羧基的树枝状的聚芳香醚单分子胶束,由于芳香醚与芳环间存在 $\pi-\pi$ 相互作用,该类树状大分子能增溶一系

列多环化合物。Ma 等^[7]制备了 SMZ(磺胺甲基异噁唑)- $G_{3.0}$ PAMAM 树状大分子包合物, SMZ 分子被包裹于 PAMAM 树状大分子的内部空腔中并与其结构中的叔胺基团产生氢键作用力。

2.2 药物结合于树状大分子表面

2.2.1 静电结合 树状大分子表面具有大量的可解离基团,可通过静电作用吸附众多药物分子。例如,整代 PAMAM 树状大分子表面有伯胺末端基团($-\text{NH}_2$),核内分支点是叔胺基团($>\text{N}$), pK_a 值分别为 10.7 和 6.5。弱酸性药物布洛芬(ibuprofen)的羧基可以和树状大分子的氨基基团产生静电作用,在 $\text{pH} 10.5$ 溶液中,一个 $G_{4.0}$ PAMAM 树状大分子可以通过静电作用结合 40 个布洛芬分子^[8]。

2.2.2 共价结合 药物分子可以通过可水解或可生物降解的化学键与树状大分子表面基团共价连接,与静电结合相比,这种结合方式能更好地控制药物释放。

Malik 等^[9]将抗肿瘤药物顺铂与 $G_{3.5}$ PAMAM 树状大分子连接,得到的复合物显示出极强的水溶性并具有明显的缓释特征。复合物的毒性仅为原形药物的 $1/3 \sim 1/15$,并且在体内可通过 EPR 效应选择性地蓄积在肿瘤部位。Padilla 等^[10]合成了聚酯树状大分子,阿霉素通过胺键与聚酯树状大分子形成共价结合的复合物。胺键在生理条件下($\text{pH} 7.4$)稳定,当复合物经细胞内吞作用进入细胞后,被转运到溶酶体或内涵体等弱酸性环境的亚细胞器时,胺键水解释放药物^[11]。

3 树状大分子作为药物载体的作用特点

作为一种新型药物载体,树状大分子具有明显的优势:①无免疫原性,不会引起细胞的免疫反应;②无遗传毒性且细胞毒性低;③纳米级的粒径使其更容易透过血管壁或细胞膜等生物屏障;④分子结构中具有可包裹药物分子的巨大空腔,载药量高;⑤可包裹不稳定或难溶性药物,增加其稳定性或提高其溶解度和生物利用度,并控制药物释放;⑥分子结构外表面具有大量的官能团,适当修饰后可增加其在体内的循环时间,还可与靶向基团连接实现靶向给药。

Devarakonda 等^[12]首次比较了 PAMAM 树状大分子与 β -环糊精($\beta\text{-CD}$)及羟丙基- β -环糊精($\text{HP-}\beta\text{-CD}$)对水不溶性药物氯硝柳胺的增溶效果。结果表明, PAMAM 树状分子对氯硝柳胺的增溶效果优于 $\beta\text{-CD}$ 及 $\text{HP-}\beta\text{-CD}$,并且树状分子与药物能形成更稳定的复合物。Devarakonda 等还比较了整代及半代

的树状分子对氯硝柳胺的增溶效果,发现半代的树状分子对该药物没有增溶作用。其原因是半代的树状分子只有叔胺基团,质子化作用不及伯胺,在水溶液中处于非离子化状态,不能与药物分子发生相互作用,这也说明了荷负电的氯硝柳胺分子与整代树状分子表面带正电荷的伯胺基团产生较强的静电作用。

Ma等^[7]以 SMZ为模型药,评价了 PAMAM 树状大分子作为抗菌药物载体的性能。在 G3.0 PAMAM树状大分子溶液 ($10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)中, SMZ的溶解度是其在 37°C 双蒸水中的 40倍。抗菌活性实验结果显示, PAMAM树状大分子使 SMZ的抗菌活性增加 4~8倍。体外释药行为表明, SMZ-G3.0 PAMAM树状大分子包合物中 SMZ的释放速率显著降低, 1 h和 10 h时分别释放了 4.8%和 42.2%的游离 SMZ,具有明显的缓释特征。

Pan等^[13]以甲氨蝶呤 (MTX)为模型药,探讨 PEG取代度对经 PEG修饰的 G3.0 PAMAM树状大分子的包封率影响。结果表明,取代度对包封率无明显影响,这也说明了 MTX结合于树状大分子内部结构中,而不是结合在树状大分子表面。PEG修饰的 G3.0 PAMAM对 MTX的包封率可达到每个树状分子结合大约 13个 MTX分子。

叶玲等^[14,15]研究了 G5.0 PAMAM树状大分子与 MTX的结合作用及其复合物的释放行为。结果表明, 1个 G5.0 PAMAM树状大分子能结合 27个 MTX分子。在 Tris-HCl缓冲溶液中, MTX从 G5.0 PAMAM-MTX复合物中释放 80%需要 90 h,具有明显的缓释特点。对 G5.0 PAMAM与 MTX结合机制的研究发现,树状大分子的末端氨基正离子与 MTX的羧基负离子发生了静电作用,¹³C NMR表明 MTX并没有结合在 G5.0 PAMAM树状大分子的内部。

Kolhe等^[16]用二环己基碳二亚胺 (DCC)作为偶联剂,将 ibuprofen分子以酯键结合在一个以 -OH为末端基团的 G4.0 PAMAM树状大分子表面,得到高载药量的 ibuprofen-PAMAM复合物,一个树状大分子可结合 58个 ibuprofen分子。细胞实验结果表明,复合物能快速进入 A549肺上皮癌细胞系,在胞质中达到较高的局部浓度。抗炎活性实验结果表明,复合物进入细胞后,在细胞质靶点可有效抑制前列腺素 (PGE_2)的合成。可以推测在内涵体酸性的环境以及酶的作用下,复合物的酯键被水解释放出原形药物。但目前还不能确定 ibuprofen是以游离形式产生药效,还是在共价结合状态下同样具有抗

炎作用。关于 ibuprofen-PAMAM复合物在不同 pH及酶存在条件下的稳定性研究正在进行中。

Najlah等^[17]设计、合成并表征了一系列基于 G0代 PAMAM树状大分子的前药。将水难溶性药物甲氧萘丙酸以酰胺键直接与树状大分子共价结合,或者用 L-乳酸或二甘醇作为衔接物,以酯键形式结合,得到的前体药物的亲水性均优于原形药物。酰胺键复合物与酯键复合物在 pH 1.2, pH 7.4及 pH 8.5缓冲液中放置 48 h后化学稳定性良好。在人血浆中,酯键复合物可通过酶解作用释放游离药物。乳酸酯复合物的水解速率较慢, 24 h仅释放 25%游离药物;二甘醇酯复合物的水解速率很快, $T_{1/2}$ 为 51 min,水解过程遵循假一级动力学。

Patri等^[18]以 MTX为模型药制备了 MTX-PAMAM物理包合物及共价结合的复合物,并进行了体外评价。在磷酸盐缓冲液中, MTX从 MTX-PAMAM物理包合物中释放速率与游离 MTX相当,而 MTX-PAMAM复合物在释放介质中基本不释放药物。细胞毒性实验结果表明, MTX-PAMAM物理包合物与游离 MTX的活性相同,不具有选择性。物理包合物中药物释放相对容易,共价结合的复合物则更加适合应用于靶向给药系统。

4 树状大分子介导的药物靶向传递

树状大分子表面经 PEG修饰后,不仅增加了其生物相容性,更使其在体内具有长循环的特性。Bhadra等^[19]合成了 G4.0 PAMAM树状大分子包裹 5-氟尿嘧啶 (5-FU),并用 MPEG-5000修饰 PAMAM分子(图 2)。静脉注射未经 PEG修饰的树状大分子复合物, C_{max} 约为 $21 \sim 23 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, T_{max} 为 3 h。6 h后检测不到药物存在;而经 PEG修饰的树状大分子包合物, C_{max} 为前者的 1/3, T_{max} 与前者相同, 12 h后检测不到药物存在。上述结果表明,经 PEG修饰的 PAMAM树状大分子在血液中循环时间延长,缓释效果明显。Okuda等^[20]合成了 G6.0赖氨酸树状大分子 (KG6)及两种 PEG修饰的衍生物。每个 KG6分子分别与 10个和 76.1个 PEG分子共价结合,得到 PEG(10)-KG6和 PEG(76)-KG6。KG6原形在血液中消除很快,非特异性地在肝、肾中蓄积。经 PEG修饰的 KG6衍生物在血液中消除半衰期延长, 24 h时仍可检出,并且在肝、肾蓄积量显著降低,能通过 EPR效应选择性地浓集于肿瘤部位。其中,PEG(76)-KG6血液半衰期比 PEG(10)-KG6长,并且在肿瘤部位的蓄积更为显著。

树状大分子的外表面是附着细胞特异性配体、

抗体、小肽等靶向基团的良好平台,经修饰后可作为药物靶向传递系统的载体。叶酸受体(folate receptor)是一种在肿瘤细胞膜表面高度表达的蛋白膜受体,它可通过介导细胞内化将叶酸摄入入细胞胞浆。采用叶酸修饰的树状大分子可以通过特异受体介导的细胞内吞作用选择性地进入肿瘤细胞。

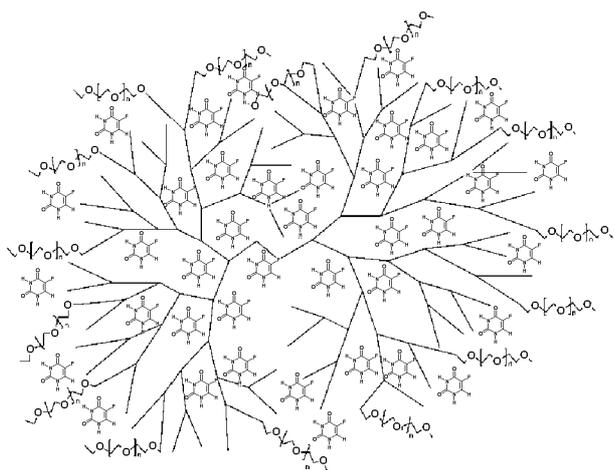


图 2 PEG 修饰的 G4.0 PAMAM 树状大分子包裹 5-FU 的分子结构草图

Chandrasekara 等^[21]制备了叶酸修饰的 PAMAM 树状大分子包合物。叶酸通过碳化二亚胺反应与 G4.0 PAMAM 树状大分子末端氨基连接,然后将吡哆美辛包裹于树状大分子中。关节炎大鼠体内药物动力学实验及组织分布实验结果表明,与未修饰的树状大分子相比,叶酸修饰的树状大分子在炎症部位有更高的蓄积量。此外,载药量及药物包封率随叶酸取代度的升高而增加,其原因可能是叶酸分子中疏水的芳香基团在一定程度上扩大了树状大分子的疏水内腔结构,为疏水药物分子提供了更大的空间。Baker 小组提出,单功能的树状大分子可以通过寡聚核苷酸桥链连接,形成多功能的树状大分子群。将具有靶向基团的树状大分子与载药树状大分子连接,形成的树状大分子群可作为药物靶向传递系统的载体。提出建立树状大分子库,每个树状大分子具有单一功能,根据临床需要进行组合^[22,23]。已合成两种 PAMAM 树状大分子,一种与叶酸连接,另一种与荧光标记物结合,然后将互补寡聚核苷酸加到每个树状大分子中。把两种树状大分子混合,在适宜温度下,互补寡聚核苷酸连接在一起形成具有多功能的树状大分子群。体外实验结果表明,树状大分子群能特异性地结合表达叶酸受体的肿瘤细

胞。

5 树状大分子介导的基因转染

基因载体主要有病毒载体(viral vector)和非病毒载体(non-viral vector)。病毒载体主要包括腺病毒、逆转录病毒和疱疹病毒等。这类载体可以携带治疗基因进入细胞并直接对基因表达进行调控,基因表达产物发挥治疗作用。病毒载体虽然基因转运能力强,但其在临床应用上存在安全性问题,并且其携带基因大小受限制以及不易大量生产和质量控制。因此,研制非病毒载体成为重要发展方向^[24]。

目前,大多数非病毒载体都存在细胞毒性大、转染率低、血清依赖性大、适用范围受限等缺点。树状大分子作为一种新型纳米级基因载体,具有无免疫原性及遗传毒性的优点,已引起研究人员的广泛关注,成为该领域的研究热点之一。

在生理条件下,末端基团为氨基的 PAMAM 树状大分子表面带正电荷,可与 DNA 分子主链上带负电荷的磷酸基团发生静电结合作用,形成具有高度稳定性的复合物,该复合物可保护 DNA 避免酶的降解,在体内或体外均可获得高水平的 DNA 转运效率。PAMAM-DNA 复合物可通过其表面的阳离子与细胞膜上带有负电荷的糖蛋白或磷脂的静电相互作用,并与细胞表面结合,通过胞吞作用进入细胞质^[25]。PAMAM 树状大分子对 DNA 的转运效率随代数的增大而升高,其中 G5.0 ~ G10.0 代 PAMAM 树状大分子具有较高的基因转染率^[26]。Choi 等^[27]设计并合成了 L-精氨酸(L-Arg)修饰的 PAMAM 树状大分子(PAMAM-Arg)作为基因传递的载体,PAMAM-Arg 可与 DNA 通过静电作用自组装形成平均直径为 200 nm 的复合物。与未经修饰的 PAMAM 树状大分子及赖氨酸(Lys)修饰的 PAMAM 树状大分子相比,此复合物显示出较高的基因转运效率。Yamagata 等^[28]比较了两类聚赖氨酸载体聚赖氨酸树状大分子和直链聚赖氨酸(PLL)运载基因的性能。实验结果表明,PLL 介导的 DNA 结合量与细胞摄取量比 KG6 高 4 倍,而 KG6 介导的基因表达比 PLL 介导的高 100 倍。

6 树状大分子的细胞毒性

树状大分子的细胞毒性与初始核的化学性质有关,但更大程度上受到树状大分子末端基团性质的影响。例如,阳离子树状大分子(整代)的细胞毒性要比阴离子树状大分子(半代)大得多^[29]。同样,以 -OH 为末端基团的 PAMAM 树状大分子要比以 -NH₂为末端基团的 PAMAM 树状大分子毒性小,这

主要是由于表面 -OH 遮蔽了内层阳离子电荷^[30]。经 Lys 或 Arg 修饰的 G4.0 PAMAM 树状大分子,于自交第二代人上皮细胞或 293 人胚肾细胞孵化时,显示出比未修饰的树状大分子更强的细胞毒性^[27]。这主要是由于修饰后导致树状大分子表面的电荷密度以及分子质量增加。

PAMAM 树状大分子(以 -NH₂ 为末端基团)表现出浓度及大小依赖的细胞毒性,其分子代数和浓度越高,细胞毒性越强。例如, G3.0 PAMAM 仅在很高的浓度(1 mmol·L⁻¹)才影响 V79 细胞的生长, G5.0 PAMAM 在 10 μmol·L⁻¹ 浓度时显示出细胞毒性,而 G7.0 PAMAM 在 5 μmol·L⁻¹ 浓度下即可导致细胞死亡,其毒性大小与细胞暴露在 PAMAM 分子中的时间无关^[25]。

对树状大分子进行表面修饰可以降低其毒性,增加其生物相容性。Jevprasesphant 等^[31]应用 Caco-2 细胞研究了表面修饰对 PAMAM 树状大分子细胞毒性的影响。研究表明,用月桂酰基或 PEG 链对 PAMAM 树状大分子(G2.0, G3.0, G4.0)进行表面修饰,可使其对 Caco-2 细胞的毒性显著降低,其原因可以解释为修饰链对树状大分子表面正电荷有屏蔽作用。此外,以可生物降解的材料来合成树状大分子也是降低其毒性的途径之一。

7 结语

树状大分子是一类新型的纳米级药物载体,由于其本身固有的独特优势,在药学特别是药剂学研究领域具有广阔的发展空间。目前对于树状大分子的研究尚处于起步阶段,其体内外释药行为、靶向性及代谢途径等还有待深入研究。由于树状大分子合成过程步骤多,反应时间长,产物不易纯化,目前国内还没有商品化的树状大分子,国外虽有商品化的 PAMAM 树状大分子,但价格较贵,这也限制了国内科研工作者对其进行更广泛的研究以及机制的探讨。

References

- [1] Tomalia DA, Baker H, Dewald J, et al. A new class of polymers starburst-dendritic macromolecules [J]. Polym J, 1985, 17: 117 - 132.
- [2] Newkome GR, Moorefield CN, Baker GR, et al. Unimolecular micelles [J]. Angew Chem Int, 1991, 30: 1178 - 1180.
- [3] Stevelmans S, van Hest JCM, Jansen J, et al. Synthesis, characterization, and guest-host properties of inverted unimolecular dendritic micelles [J]. J Am Chem Soc, 1996, 118: 7398 - 7399.
- [4] Hawker CJ, Wooley KL, Fréchet JM. Unimolecular micelles and globular amphiphiles: dendritic macromolecules as novel recyclable solubilization agents [J]. J Chem Soc, 1993, 1: 1287 - 1297.
- [5] Huang F. Study on the synthesis and surface activity of PAMAM dendrimer [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2004.
- [6] Svenson S, Tomalia DA. Dendrimers in biomedical applications-reflections on the field [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2005, 57: 2106 - 2129.
- [7] Ma M, Cheng Y, Xu Z, et al. Evaluation of polyamidoamine (PAMAM) dendrimers as drug carriers of anti-bacterial drugs using sulfamethoxazole (SMZ) as a model drug [J]. Eur J Med Chem, 2007, 42: 93 - 98.
- [8] Milhem OM, Myles C, McKeown NB, et al. Polyamidoamine starburst dendrimers as solubility enhancers [J]. Int J Pharm, 2000, 197: 239 - 241.
- [9] Malik N, Evagorou EG, Duncan R. Dendrimer-platinum: a novel approach to cancer chemotherapy [J]. Anticancer Drugs, 1999, 10: 767 - 776.
- [10] De Jesus Padilla OL, Ihre HR, Gagne L, et al. Polyester dendritic systems for drug delivery applications: *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. Bioconjug Chem, 2002, 13: 453 - 461.
- [11] Greenfield RS, Kaneko T, Daues A, et al. *In vitro* evaluation of adriamycin immuno-conjugates synthesized using an acid-sensitive hydrazone linker [J]. Cancer Res, 1990, 50: 6600 - 6607.
- [12] Devarakonda B, Hill RA, Liebenberg W, et al. Comparison of the aqueous solubilization of practically insoluble niclosamide by polyamidoamine (PAMAM) dendrimers and cyclodextrins [J]. Int J Pharm, 2005, 304: 193 - 209.
- [13] Pan G, Lemmouchi Y, Akala EO, et al. Studies on PEGylated and drug-loaded PAMAM dendrimers [J]. J Bioact Compat Polym, 2005, 20: 113 - 128.
- [14] Ye L, Jing XZ, Yang H, et al. Complex and *in vitro* release of methotrexate-PAMAM dendrimer [J]. Chem J Chin Univ (高等学校化学学报), 2005, 26: 353 - 355.
- [15] Ye L, Yang H, He ML, et al. Investigation of PAMAM dendrimer MTX complex: formation and *in vitro* release [J]. Acta Polym Sin (高分子学报), 2006, 1: 32 - 36.
- [16] Kolhe P, Khandare J, Pillai O, et al. Preparation, cellular transport, and activity of polyamidoamine-based dendritic nanodevices with a high drug payload [J]. Biomaterials, 2006, 27: 660 - 669.
- [17] Najlah M, Freeman S, Attwood D, et al. Synthesis, characterization and stability of dendrimer prodrugs [J]. Int J Pharm, 2006, 308: 175 - 182.

- [18] Patri AK, Kukowska-Latallo JF, Baker JR. Targeted drug delivery with dendrimers: Comparison of the release kinetics of covalently conjugated drug and non-covalent drug inclusion complex [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57: 2203 - 2214.
- [19] Bhadra D, Bhadra S, Jain S, et al. A PEGylated dendritic nanoparticulate carrier of fluorouracil [J]. *Int J Pharm*, 2003, 257: 111 - 124.
- [20] Okuda T, Kawakami S, Akimoto N, et al. PEGylated lysine dendrimers for tumor-selective targeting after intravenous injection in tumor-bearing mice [J]. *J Control Release*, 2006, 116: 330 - 336.
- [21] Chandrasekara D, Sistla R, Ahmadb FJ, et al. The development of folate-PAMAM dendrimer conjugates for targeted delivery of anti-arthritis drugs and their pharmacokinetics and biodistribution in arthritic rats [J]. *Biomaterials*, 2007, 28: 504 - 512.
- [22] Choi Y, Thomas T, Kotlyar A. Synthesis and functional evaluation of DNA-assembled polyamidoamine dendrimer clusters for cancer cell-specific targeting [J]. *Chem Biol*, 2005, 12: 35 - 43.
- [23] Sampathkumar SG, Yarema KJ. Targeting cancer cells with dendrimers [J]. *Chem Biol*, 2005, 12: 5 - 13.
- [24] Huang W, Cui GH, He JF. Preliminary study of chitosan nanoparticles used as gene delivery carriers [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2002, 37: 981 - 985.
- [25] Kang R, Cao LZ. The current research status of the application of nanometer carrier polyamidoamine dendrimers in cancer therapy [J]. *Foreign Med Sci (Pediatr) (国外医学儿科学分册)*, 2004, 31: 96 - 98.
- [26] Li N, Zhang YH, Xiong XL. Applications of dendrimers in pharmaceuticals [J]. *Chin J Pharm (中国医药工业杂志)*, 2006, 37: 275 - 279.
- [27] Choi JS, Nam K, Park JY, et al. Enhanced transfection efficiency of PAMAM dendrimer by surface modification with *L*-arginine [J]. *J Control Release*, 2004, 99: 445 - 456.
- [28] Yamagata M, Kawano T, Shiba K, et al. Structural advantage of dendritic poly(*L*-lysine) for gene delivery into cells [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2007, 15: 526 - 532.
- [29] Chen HT, Neeman MF, Parrish AR, et al. Cytotoxicity, hemolysis, and acute *in vivo* toxicity of dendrimers based on melamine, candidate vehicles for drug delivery [J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 10044 - 10048.
- [30] Lee H, Lim YB, Choi JS, et al. Polyplexes assembled with internally quaternized PAMAM-OH dendrimer and plasmid DNA have a neutral surface and gene delivery potency [J]. *Bioconjug Chem*, 2003, 14: 1214 - 1221.
- [31] Jevprasesphant R, Penny J, Jalal R, et al. The influence of surface modification on the cytotoxicity of PAMAM dendrimers [J]. *Int J Pharm*, 2003, 252: 263 - 266.