

Nanomateriały we wspomaganiu terapii fotodynamicznej

Nanomaterials for PDT applications

Joanna Pucińska, Halina Podbielska

Institut Inżynierii Biomedycznej i Pomiarowej, Politechnika Wroclawska, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, tel. +48 (0) 71 320 65 80, e-mail: 146785@student.pwr.wroc.pl

Streszczenie

Nanotechnologia obecna jest już w wielu dziedzinach nauki i gospodarki. Jednakże najważniejsze zastosowanie struktury submikronowe znajdują w elektronice i biotechnologii. Nanotechnologia stymuluje także rozwój medycyny. Duże zainteresowanie wzbudza zastosowanie nanomateriałów do poprawy efektywności terapii fotodynamicznej. Niniejsza praca zawiera krótki przegląd metod polepszenia właściwości farmakokinetycznych fotouczulaczy stosowanych w PDT.

Słowa kluczowe: fotouczulacz, nanocząstki, terapia fotodynamiczna

Abstract

Nanotechnology became popular in many fields of contemporary science and technology. The main areas of applications are in electronics and biotechnology. The developments in nanotechnology also stimulate the progress in medicine. There is an increasing interest in applications of nanomaterials for improving the efficacy of photodynamic therapy. The presented paper is a short survey of the methods proposed for optimizing the pharmacokinetic properties of PDT photosensitizers.

Keywords: photosensitizer, nanoparticles, photodynamic therapy

Wstęp

Terapia fotodynamiczna jest metodą leczenia zarówno onkologicznych, jak i nieonkologicznych zmian patologicznych [1, 2]. Polega na dostarczeniu do tkanki specjalnego barwnika, który gromadzi się w obszarze chorobowo zmienionym. Zakumulowany w tkance światłouczulacz zostaje poddany ekspozycji na promieniowanie elektromagnetyczne o odpowiedniej mocy i długości fali, co prowadzi do powstawania reaktywnych form tlenu (wolnych rodników i tlenu singletowego) i daje początek reakcjom cytotoksycznym. W efekcie następuje destrukcja struktur komórkowych w oświetlonym obszarze, a dodatkowo uszkodzone zostają naczynia krwionośne, odżywiający chorobowo zmienioną tkankę [1, 3].

W medycynie fotodynamicznej główną rolę odgrywa fotosensybilizator (PS – ang. *photosensitizer*), czyli wspomniany światłouczulacz – związek fotoaktywny, który pod wpływem światła o odpowiedniej długości fali bierze udział w produkcji tlenu singletowego [4]. Aby efekt terapii fotodynamicznej był zadowalający, podany światłouczulacz musi wykazywać wysoką selektywność akumulacji, a więc gromadzić się wyjątkowo w tkankach chorobowo zmienionych. Pożądanymi cechami są także wysoka wydajność produkcji tlenu singletowego oraz brak toksyczności ciemniowej [1, 5].

Niestety nie istnieją jeszcze fotouczulacze spełniające wszystkie stawiane im wymagania [4]. Ograniczona zdolność wielu barwników do wybiórczej akumulacji w tkankach patologicznych może np. prowadzić do ciężkich poparzeń na całym ciele, nawet po krótkiej ekspozycji na światło słoneczne. Dodatkowo efekt ten może się utrzymywać od jednego do

trzydziestu dni po zabiegu [1, 6, 7]. Wysoka energia aktywacji niektórych fotouczulaczy wymusza długi czas naświetlań. Natomiast hydrofobowy charakter utrudnia ich dożylne podawanie. Przyczyną problemów może być również przedwczesny klirens i niestabilność związków fotouczulających w środowisku biologicznym [4].

Jednak niektóre niepożądane cechy fotouczulaczy można zmodyfikować za pomocą nanotechnologii. Niejednokrotnie dowiedziono już, że rozmaite nanomateriały w połączeniu z barwnikami mogą nie tylko zwiększyć wydajność terapii fotodynamicznej, ale także ograniczyć jej efekty uboczne [4, 8, 9, 10, 11].

Największy problem stanowi ograniczona selektywność akumulacji fotouczulaczy. Tkankę nowotworową odżywia sieć naczyń krwionośnych o zwiększonej przepuszczalności śródbłonna. Dodatkowo brak odpowiedniego drenażu powoduje, że makromolekuły łatwo gromadzą się w tkance chorobowo zmienionej [1, 12, 13]. Dlatego też, po dożylnej aplikacji, cząstki światłouczulacza dostają się do obszarów dotkniętych chorobą i tam się zatrzymują. Taki typ akumulacji zwany jest kierunkowaniem pasywnym (*passive targeting*). W przypadku kompleksu fotouczulacz-nanocząstka, do powierzchni nanocząstki (NP – *nanoparticle*) przyłączyć można rozmaite ligandy, takie jak przeciwciała monoklonalne, fagi czy cząstki kwasu foliowego. To podejście, znane jako kierunkowanie aktywne (*active targeting*), znacznie poprawia selektywność akumulacji fotouczulaczy [10, 14].

Dodatkowo przedostawanie się toksycznego fotosensybilizatora do zdrowych tkanek można uniknąć, manipulując rozmiarami nanocząstek, z którymi jest on związany. Przez ściany naczyń krwionośnych większości guzów mogą przenikać cząstki o rozmiarach od 100 nm do 780 nm, podczas gdy w tkankach zdrowych możliwe jest to dla cząstek o średnicy od 2 nm do 6 nm. Dlatego też optymalny rozmiar nośników cząstek fotouczulacza zawiera się w przedziale od 50 nm do 150 nm [14]. Wymiary kompleksu PS-NP mają również wpływ na czas jego cyrkulacji w organizmie, bowiem klirens rośnie wraz ze zwiększającą się średnicą nanocząstek [15].

W niniejszym opracowaniu zostaną pokrótce omówione najważniejsze typy nanomateriałów wykorzystywanych jako nośniki fotouczulaczy do PDT.

Nanocząstki metali

Fotosensybilizator może być kowalencyjnie związany z powierzchnią nośnika za pomocą łącznika chemicznego [16]. Farmakokinetyczne właściwości całego kompleksu zależą od zastosowanego metalu. W pracy pod kierownictwem Wieder'a [17] pokazano, że hydrofobowa ftalocyanina może zostać przyłączona za pomocą tiolu do powierzchni nanocząstki złota. Uzyskany w ten sposób kompleks dobrze rozpuszcza się w środowisku polarnym. Ponadto uzyskano znaczną poprawę efektywności; kwantowa wydajność generacji tlenu singletowego w obecności badanego kompleksu była aż o 50% większa niż w przypadku czystej ftalocyaniny.

Nanocząstki na bazie ceramiki

Nanocząstki na bazie ceramiki pozwalają zamykać w nich fotouczulacze o właściwościach hydrofobowych [18]. Proces

wytwarzania nanocząstek tego typu podobny jest do metody zol-żelowej, a więc nie wymaga wysokich temperatur. Ponieważ technika ta jest dobrze opanowana, można wykonywać nanocząstki na bazie ceramiek o dowolnym rozmiarze, kształcie i porowatości. Cząstki te są niezwykle stabilne i zmiana pH środowiska nie powoduje zmian objętości czy porowatości. Zamknięcie światłoczułacza w ceramicznej nanocząstce chroni go przed atakiem mikroorganizmów oraz denaturacją spowodowaną ekstremalną temperaturą bądź pH. Dodatkowo powierzchnia tych nanocząstek może być łatwo modyfikowana różnymi ligandami, które zapewnią kierunkowanie aktywne [9-11].

W jednej z prac [18] zsyntezowano 30-nanometrowe cząstki na bazie krzemu wypełnione przez HPPH (2-devinyl-2-(1-hexyloxyethyl) pyropheophorbide). Nośniki te ze względu na dużą stabilność nie uwalniały zamkniętego w nich barwnika. Jednak ich porowate ścianki okazały się przepuszczalne dla tlenu singletowego, a więc osiągnięto efekt fotodestrukcji. Dzięki inkapsulacji fotoczułacza HPPH udało się uniknąć wygaszania fluorescencji w roztworach wodnych. Badania *in vitro* na komórkach nowotworowych wykazały, że zsyntezowany kompleks był przez nie dobrze wchłaniany, a późniejsze naświetlanie prowadziło do nieodwracalnych uszkodzeń struktur biologicznych.

Nanocząstki polimerowe

W zależności od metody przygotowania, nanocząstki na bazie polimerów mogą przybierać formę nanokulek z cząsteczkami fotoczułacza przyłączonymi do ich powierzchni bądź nanokapsułów, wewnątrz których uwięziony jest związek fotoaktywny [19-22]. Nośniki polimerowe wykazują mniejszą stabilność w środowisku biologicznym niż nanocząstki na bazie ceramiek. Mają jednak inne zalety. Mogą być na przykład zsyntezowane z materiałów biodegradowalnych, co pozwoli na ciągłe uwalnianie barwnika przez okres kilku dni, a nawet tygodni [23, 24].

Naukowcy z Uniwersytetu w Michigan [25] dowiedli, że inkapsulacja światłoczułacza pomaga zachować jego fotodynamiczną wydajność. Uwięzili oni błękit metylenowy wewnątrz 30-nanometrowych cząstek na bazie nietoksycznego poliakrylamidu. Następnie z udziałem zsyntezowanego kompleksu przeprowadzili *in vitro* procedurę PDT na szczyrkach komórek glejaka C6. Eksperyment pokazał, że polimerowe nanokapsuły ochroniły uwięziony w nich fotoczułacz przed degradacją enzymatyczną i środowiskową. Jednocześnie polimerowa membrana pozwalała wygenerowanemu tlenu singletowemu dyfundować na zewnątrz nanokapsuły, co powodowało reakcje cytotoksyczne. Ponadto zredukowano też potencjalną toksyczność fotosensybilizatora. Mimo iż wszystkie komórki miały kontakt z kompleksem PS-NP, uszkodzeń doznały wyłącznie te naświetlane. Dodatkowo stwierdzono skrócenie czasu inkubacji. Ponieważ omawiane nanocząstki zostały tak zaprojektowane, by dostarczać jedynie tlen singletowy, nie musiały one być wchłaniane do wnętrza komórki. Do zachowania efektywności fototerapii wystarczył kontakt nośnika z zewnętrzną błoną komórkową.

Polimerowe micelle

Kopolimery amifilowe (składające się z części hydrofilowej i hydrofobowej) w roztworach wodnych mają zdolność do samoistnego formowania się w sferyczne molekule o rozmiarach od 10 nm do 100 nm [10, 14]. Samorzutne formowanie miceli ma miejsce, kiedy koncentracja kopolimerów przekroczy wartość krytyczną – tzw. CMC (*critical micelle concentration*). Segmenty hydrofobowe tworzą wówczas rdzeń miceli, segmenty hydrofilowe natomiast jej powierzchnię. Zewnętrzna hydrofilowa warstwa zapewnia rozpuszczalność nośnika w roztworach wodnych (co ułatwia dożylnie podawanie środka), podczas gdy wnętrze może być zajęte przez stosunkowo duże ilości cząstek hydrofobowych barwników. Dlatego też polimerowe micelle wykorzystuje się jako nośniki za-

mnionych w ich wnętrzu fotoczułaczy hydrofobowych [26-28].

Rdzeń miceli może być zbudowany z różnego rodzaju polimerów, jednak warstwę zewnętrzną prawie zawsze tworzy glikol polietylenowy (PEG) [29]. Hydrofilowa powierzchnia złożona z PEG zapobiega opsonizacji i wydłuża czas krążenia kompleksu w organizmie. Rozmiar i właściwości farmakokinetyczne miceli mogą się nieco różnić w zależności od tego, z czego zbudowany jest rdzeń. Na przykład micelle poliestrowe są biokompatybilne i biodegradowalne, a te na bazie poli(L-aminokwasów) są wrażliwe na zmiany pH. Te ostatnie mogą zatem zostać wykorzystane jako nośniki leków przeciwnowotworowych o kontrolowanym uwalnianiu (pH tkanki nowotworowej jest obniżone) [10]. Niektóre z zsyntezowanych do tej pory typów miceli wykazują wrażliwość na temperaturę [30-32].

Kolejną ważną właściwością tych nośników jest zwiększona stabilność w stosunku do struktur o małej wadze molekularnej, ponieważ wartość krytycznej koncentracji miceli polimerowych jest bardzo niska [27, 29]. Ponadto w takich nanocząstkach występuje gradient polarności – od hydrofobowego rdzenia do hydrofilowej powierzchni. Pozwala to na dołączanie hydrofobowych cząstek o różnych polarnościach do różnych obszarów w miceli [33]. Zaletą kopolimerowych miceli jest także mały rozrzut ich wymiarów [9, 27, 29].

Liposomy

Liposomy zbudowane są z podwójnej błony lipidowej, otaczającej niewielką objętość wodnego roztworu. Ich wodny rdzeń może być wykorzystany do przenoszenia związków fotoczułających. Liposomy mogą być jedno- lub wielowarstwowe o średnicach od 30 nm do kilku mikrometrów [10]. Wybór składników membran oraz metody przygotowania wpływa na rozmiar, ładunek powierzchniowy, stabilność i przepuszczalność błony liposomu. Na przykład nienasycona fosfatydycholina tworzy przepuszczalne, ale dość niestabilne błony, podczas gdy membrany uformowane przez dipalmitoilofosfatydylocholinę są sztywne i stabilne, choć mało przepuszczalne [9].

Aby polepszyć właściwości liposomów jako nośników, do ich powierzchni dołącza się PEG, który przedłuża cyrkulację w krwioobiegu [9]. Odpowiednie ligandy związane z powierzchnią dodatkowo zwiększają selektywność akumulacji. W przypadku liposomów kierunkowanie aktywne może być osiągnięte prościej – poprzez zmianę ładunku powierzchniowego na dodatni [14]. Liposomy kationowe bowiem wiążą się z ujemnie naładowanymi fosfolipidami, które eksponowane są na śródbłonku tkanki nowotworowej [14, 34, 35].

Niestety nośniki leków oparte na liposomach mają też swoje wady. Wydajność inkapsulacji barwnika jest niska, a uwięzione wewnątrz liposomu cząstki fotoczułacza agregują [2, 18]. Agregacja cząstek fotosensybilizatora obniża ich fotodynamiczną efektywność [17]. Liposomy są także podatne na opsonizację i układ immunologiczny szybko usuwa je z organizmu [2, 18]. Dlatego też dołączanie glikolu polietylenowego do ich powierzchni jest kluczowe. Wadą liposomów jest też ich tendencja do dysocjowania w roztworach wodnych [36].

Dendymery

Dendymery są wielokrotnie i regularnie rozgałęzionymi polimerami, nabudowywanymi zazwyczaj wokół małej molekulej zwanej rdzeniem [9, 10, 36, 37]. Rdzeń zdefiniowany jest jako generacja zero (G0), a kolejne generacje stanowią następne polimerowe warstwy syntezowane wokół niego. Dendymery mogą być budowane na dwa sposoby: synteza kolejnych warstw dendrymeru rozpoczyna się w rdzeniu i przesuwana w stronę obrzeża, albo też zaczyna się od skrajnych gałęzi molekulej i kończy na rdzeniu [38, 39]. Ponieważ dendymery składają się z monomerów typu AB-n, każda kolejna generacja zawiera 2-3 razy więcej gałęzi niż poprzednia.

Związki fotoaktywne mogą być dołączone zarówno do powierzchni, jak i do wewnętrznych warstw otaczających rdzeń lub do samego rdzenia. Gdy cząsteczka fotouczulacza znajdzie się w jednej z dwóch ostatnich lokalizacji, gałęzie dendrymeru będą ją chronić przed środowiskiem zewnętrznym. Sposób oddziaływania tych makromolekuł ze środowiskiem zewnętrznym zależy głównie od rodzaju polimerów wykorzystanych do syntezy ich zewnętrznych warstw [9]. Można np. uzyskać dendrymer o hydrofobowym wnętrzu i hydrofilowej powierzchni lub na odwrót. Nośniki te cechuje także mały rozrzut średnic [40].

Konformacja dendrymerów wykazuje zależność od środowiska. W ekstremalnych pH (np. 4 lub 11) siły elektrostatyczne powodują wzajemne opychanie się gałęzi, podczas gdy w neutralnych pH struktura dendrymeru jest bardziej ściśnięta [36]. Obserwuje się również zmiany w budowie pod wpływem rozpuszczalnika. Mianowicie w rozpuszczalnikach apolarnych gęstość polarnych dendrymerów jest większa w okolicy rdzenia, w rozpuszczalnikach niepolarnych – na powierzchni. Dla dendrymerów niepolarnych relacje te ulegają odwróceniu [36].

Badania przeprowadzone przez El-Sayedą [41] dowiodły, że rozmiary dendrymerów mają wpływ na ich przedostawanie się z układu naczyń krwionośnych do tkanki. Zsyntezowano poliamidoaminowe dendrymery (PAMAM) o średnicach od 1,5 nm (G0) do 4,5 nm (G4). Eksperymenty wykazały, że wraz ze zwiększającymi się rozmiarami dendrymeru, czas potrzebny na przedostanie się nośników przez śródbłonek naczyń rośnie eksponencjalnie.

Dendrymery mają jednak te same wady, jak inne kationowe makromolekuły (np. liposomy, micelle). Mianowicie ich dodatnio naładowana powierzchnia ma tendencję do destabilizowania komórkowych membran i rozpoczynania lizy [36, 42].

Wnioski

Nanotechnologia dostarcza dziś wielu możliwości poprawy wydajności terapii fotodynamicznej. Łączenie cząstek fotouczulacza z nanomateriałami zapobiega agregacji barwnika i tym samym obniżeniu jego fotodynamicznej aktywności. Połączenie takie, w porównaniu z wolnymi cząsteczkami fotouczulacza, zwiększa ilości barwnika wchłanianie do wnętrza komórek. Hydrofobowe fotosensybilizatory mogą być zamknięte lub przyłączane do rozpuszczalnych w wodzie nanocząstek. Selektywność akumulacji może być zwiększona przez aktywne kierunkowanie bądź modyfikowanie rozmiaru nośników. Inkapsulacja barwników chroni je przed degradacją enzymatyczną oraz gwałtownymi zmianami środowiska. Zamknięcie fotosensybilizatorów wewnątrz nanokapsuł redukuje także ich toksyczność. Zsyntezowano już nawet nośniki, które dostarczają tylko tlen singletowy, podczas gdy uwięziony w nich fotouczulacz pozostaje nietknięty [43]. Ponadto nanonośniki mogą zawierać nie tylko barwniki do PDT, ale także środki kontrastowe, np. stosowane w badaniu MRI [44]. Czas cyrkulacji nośników w organizmie można wydłużyć bądź skrócić poprzez zmianę ich rozmiarów. Zatem nanonośniki dają możliwości znacznej poprawy farmakokinetycznych właściwości fotouczulaczy. ■

Literatura

1. H. Podbielska, A. Sieroń i W. Stręk (pod red.): *Diagnostyka i terapia fotodynamiczna*, Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2004.
2. Y. Konan, R. Gurny, E. Allemann: *State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy*, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 66, 2002, s. 89-106.
3. T. Mang: *Lasers and light sources for PDT: past, present and future*, Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2004, s. 43-48.
4. R. Allison, H. Mota, V. Bagnato, C. Sibata: *Bio-nanotechnology and photodynamic therapy-State of the art review*, Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 5, 2008, s. 19-28.
5. R. Allison, G. Downie, R. Cuenca, X. Hu, C. Childs, C. Sibata: *Photosensitizers in clinical PDT*, Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2004, s. 27-42.
6. I. El-Sayed, X. Huang, M. El-Sayed: *Selective laser photothermal therapy of epithelial carcinoma using anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles*, Cancer Letters 239, 2006, s. 129-135.
7. M. MacCormack, *Photodynamic Therapy*, Advances in Dermatology 22, 2006, s. 219-258.
8. D. Kessel: *Delivery of photosensitizing agents*, Advanced Drug Delivery Reviews 56, 2004, s. 7- 8.
9. S. Sahoo, V. Labhasetwar: *Nanotech approaches to drug delivery and imaging*, Drug Discovery Today, vol. 8, 2003, s. 1112-1120.
10. O. Koo, I. Rubinstein, H. Onyuskel: *Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review*, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 1, 2005, s. 193-212.
11. D. Bechet, P. Couleaud, C. Frochet, M. Viriot, F. Guillemin, M. Barberi-Heyob: *Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents*, Trends in Biotechnology vol. 26, no. 11, 2008, s. 612-621.
12. I. Brigger, C. Dubernet, P. Couvreur: *Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis*, Advanced Drug Delivery Reviews 54, 2002, s. 631-651.
13. J. Moan, Q. Peng: *An outline of the history of PDT* [w:] T. Patrice (pod red.): *Photodynamic Therapy. Comprehensive Series in Photochemistry and Photobiology*, The Royal Society of Chemistry, 2003.
14. F. Marcucci, F. Lefoulon, *Active targeting with particulate drug carriers in tumor therapy: fundamentals and recent progress*, Drug Discovery Today, vol. 9, no. 5, 2004, s. 219-228.
15. B. Pegaz, E. Debeve, J. Ballini, Y. Konan-Kouakou, H. van den Bergh: *Effect of nanoparticle size on the extravasation and the photothrombic activity of meso(p-tetracarboxyphenyl)porphyrin*, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 85, 2006, s. 216-222.
16. P. Ghosh, G. Han, M. De, Ch.Kim, V. Rotello: *Gold nanoparticles in delivery applications*, Advanced Drug Delivery Reviews 60, 2008, s. 1307-1315.
17. M. Wieder, D. Hone, M.J. Cook, M.M. Handsley, J. Gavrilovic, D. Russell: *Intracellular photodynamic therapy with photosensitizer-nanoparticle conjugates: cancer therapy using a Trojan horse*, Photochemical & Photobiological Sciences 5(8), 2006, s. 727-34.
18. I. Roy, T. Ohulchanskyy, H. Pudavar, E. Bergey, A. Oseroff, J. Morgan: *Ceramic-based nanoparticles entrapping water insoluble photosensitizing anticancer drugs: a novel drug-carrier system for photodynamic therapy*, Journal of the American Chemical Society 125, 2003, s. 7860-7865.
19. Y. Konan, M. Berton, R. Gurny, E. Allemann: *Enhanced photodynamic activity of meso-tetra(4-hydroxyphenyl) porphyrin by incorporation into sub-200 nm nanoparticles*, European Journal of Pharmaceutical Sciences 18, 2003, s. 241-249.
20. B. Pegaz, E. Debeve, F. Borle, J. Ballini, H. van den Bergh, Y. Kouakou-Konan: *Encapsulation of porphyrins and chlorins in biodegradable nanoparticles: The effect of dye lipophilicity on the extravasation and the photothrombic activity. A comparative study*, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 80, 2005, s. 19-27.
21. Y. Konan, R. Cerny, J. Favet, M. Berton, R. Gurny, E. Allemann: *Preparation and characterization of sterile sub-200 nm meso-tetra(4-hydroxyphenyl)porphyrin-loaded nanoparticles for photodynamic therapy*, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 55, 2003, s. 115-124.
22. A. Vargas, B. Pegaz, E. Debeve, Y. Konan-Kouakou, N. Lange, J.e Ballini, H.t van den Bergh, R. Gurny, F. Delie: *Improved photodynamic activity of porphyrin loaded into nanoparticles: an in vivo evaluation using chick embryos*, International Journal of Pharmaceutics 286, 2004, s. 131-145.
23. K. Soppimath, T. Aminabhavi, A. Kulkarni, W. Rudzinski: *Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices*, Journal of Controlled Release 70, 2001, s. 1-20.

24. E. Ricci-Junior, J. Marchetti: *Zinc(II) phthalocyanine loaded PLGA nanoparticles for photodynamic therapy use*, International Journal of Pharmaceutics 310, 2006, s. 187-195.
25. W. Tang, H. Xu, E. Park, M. Philbert, R. Kopelman, *Encapsulation of methylene blue in polyacrylamide nanoparticle platforms protects its photodynamic effectiveness*, Biochemical and Biophysical Research Communications no 369, 2008, s. 579-583.
26. A. Lavasanifar, J. Samuel, G. Kwon: *Micelles of poly(ethylene oxide)-block-poly(N-alkyl stearate L-aspartamide): synthetic analogues of lipoproteins for drug delivery*, Journal of Biomedical Materials Research, vol. 52, no. 4, 2000, s. 831-835.
27. K. Yasugi, Y. Nagasaki, M. Kato, K. Kataoka: *Preparation and characterization of polymer micelles from poly(ethylene glycol)-poly(D,L-lactide) block copolymers as potential drug carrier*, Journal of Controlled Release 62, 1999, s. 89-100.
28. C. Rijcken, J. Hofman, F. van Zeeland, W. Hennink, C. van Nostrum: *Photosensitizer-loaded biodegradable polymeric micelles: Preparation, characterisation and in vitro PDT efficacy*, Journal of Controlled Release 124, 2007, s. 144-153.
29. C. van Nostrum: *Polymeric micelles to deliver photosensitizers for photodynamic therapy*, Advanced Drug Delivery Reviews 56, 2004, s. 9-16.
30. J. Chung, M. Yokoyama, M. Yamato, T. Aoyagi, Y. Sakurai, T. Okano, *Thermo-responsive drug delivery from polymeric micelles constructed using block copolymers of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(butylmethacrylate)*, Journal of Controlled Release 62, 1999, s. 115-127.
31. D. Neradovic, C. van Nostrum, W. Hennink: *Thermoresponsive polymeric micelles with controlled instability based on hydrolytically sensitive N-isopropylacrylamide copolymers*, Macromolecules 34, 2001, s. 7589-7591.
32. J. Chung, M. Yokoyama, T. Okano: *Inner core segment design for drug delivery control of thermo-responsive polymeric micelles*, Journal of Controlled Release 65, 2000, s. 93-103.
33. V. Torchilin: *PEG-based micelles as carriers of contrast agents for different imaging modalities*, Advanced Drug Delivery Reviews 54, 2002, s. 235-252.
34. S. Krasnici, A. Werner, M. Eichhorn, M. Schmitt-Sody, S. Pahernik, B. Sauer, Brita Schulze, M. Teifel, U. Michaelis, K. Naujoks, Marc Dellian: *Effect of the surface charge of liposomes on their uptake by angiogenic tumor vessels*, International Journal of Cancer 105, 2003, s. 561-567.
35. G. Thurston, J. McLean, M. Rizen, P. Baluk, A. Haskell, T. Murphy, D. Hanahan, D. McDonald: *Cationic Liposomes Target Angiogenic Endothelial Cells in Tumors and Chronic Inflammation in Mice*, The Journal of Clinical Investigation, vol. 101, 7, 1998, s. 1401-1413.
36. S. Svenson, D. Tomalia: *Dendrimers in biomedical applications-reflections on the field*, Advanced Drug Delivery Reviews 57, 2005, s. 2106-2129.
37. A. Caminade, R. Laurent, J. Majoral: *Characterization of dendrimers*, Advanced Drug Delivery Reviews 57, 2005, s. 2130-2146.
38. K. Kitchens, M. El-Sayed, H. Ghandehar: *Transepithelial and endothelial transport of poly (amidoamine) dendrimers*, Advanced Drug Delivery Reviews 57, 2005, s. 2163-2176.
39. R. Duncan, L. Izzo: *Dendrimer biocompatibility and toxicity*, Advanced Drug Delivery Reviews 57, 2005, s. 2215-2237.
40. T. Okuda, S. Kawakami, T. Maeie, T. Niidome, F. Yamashita, M. Hashida: *Biodistribution characteristics of amino acid dendrimers and their PEGylated derivatives after intravenous administration*, Journal of Controlled Release 114, 2006, s. 69-77.
41. M. El-Sayed, M. Kiani, M. Naimark, A. Hikal, H. Ghandehari: *Extravasation of poly(amidoamine) (PAMAM) dendrimers across microvascular network endothelium*, Pharmaceutical Research, vol. 18, no. 1, 2001, s. 23-28.
42. N. Malik, R. Wiwattanapatapee, R. Klopsch, K. Lorenz, H. Frey, J.W. Weener, E.W. Meijer, W. Paulus, R. Duncan: *Dendrimers: Relationship between structure and biocompatibility in vitro and preliminary studies on the biodistribution of 125 I-labelled polyamidoamine dendrimers in vivo*, Journal of Controlled Release 65, 2000, s. 133-148.
43. F. Yan, R. Kopelman, *The embedding of metatetra(hydroxyphenyl)-chlorin into silica nanoparticle platforms for photodynamic therapy and their singlet oxygen production and pH-dependent optical properties*, Photochemistry and Photobiology 78, 2003, s. 587-591.
44. Z. Lu, F. Ye, A. Vaidya: *Polymer platforms for drug delivery and biomedical imaging*, Journal of Controlled Release 122, 2007, s. 269-277.

otrzymano / received: 20.04.2009 r.
zaakceptowano / accepted: 25.05.2009 r.