

# UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra anorganické chemie**



Syntéza modelových komplexů vybraných platinových kovů pro  
funkcionalizaci magnetických nanočástic

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Autor: Pavel Nawrath

Studijní obor: Bioanorganická chemie (BAGCH)

Typ studia: Prezenční

Vedoucí práce: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.

Termín odevzdání práce: 30. 4. 2018

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci sepsal samostatně pod dohledem vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury, která je řádně ocitována a uvedena v seznamu literatury. Prohlašuji, že jsem v souvislosti s vytvořením této závěrečné práce neporušil autorská práva.

Souhlasím s tím, aby byla tato práce přístupná v knihovně katedry anorganické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne .....

.....

Pavel Nawrath

Chtěl bych poděkovat doc. Mgr. Pavlu Štarhovi, Ph.D. za jeho čas, odborné vedení a cenné připomínky při vypracování této bakalářské práce. Dále chci poděkovat kolektivu Katedry anorganické chemie, a to především RNDr. Bohuslavu Drahošovi, Ph.D. za provedení hmotnostní spektrometrie a NMR spektroskopie, Mgr. Aleně Klanicové, Ph.D. za provedení infračervené spektroskopie a paní Pavle Richterové za provedení elementární analýzy. Dále chci poděkovat vedoucímu Katedry anorganické chemie, Prof. RNDr. Zdeňku Trávníčkovi, Ph.D., za možnost vypracovat předloženou práci na půdě uvedené katedry.

## Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Pavel Nawrath
Název práce:	Syntéza modelových komplexů vybraných platinových kovů pro funkcionalizaci magnetických nanočástic
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Vedoucí práce:	doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2018

**Abstrakt:** V dnešní biomedicíně se proti rakovině nejčastěji využívají léčiva na bázi platiny. S ohledem na jejich negativní vedlejší účinky se objevila snaha o vývoj nových ještě účinnějších protirakovinových léčiv. Díky svým unikátním vlastnostem patří do této alternativní skupiny komplexy ruthenia nebo iridia. Pomocí cíleného transportu v kombinaci s magnetickými nanočásticemi se může jejich efektivita několikanásobně zvýšit. Tato práce se zaměřuje na syntézu modelových komplexů Ru<sup>II</sup>, které obsahují 3-pyridinpropanovou kyselinu nebo její izomer 4-pyridinpropanovou kyselinu (ppa). Připravené komplexy, jako např. dichloro komplexy [Ru(η<sup>6</sup>-pcym)Cl<sub>2</sub>(ppa)] a [Ir(η<sup>5</sup>-Cp\*)Cl<sub>2</sub>(ppa)], interagovaly s magnetickými nanočásticemi na bázi maghemitu. Pomocí vhodných technik (elementární analýza, hmotnostní spektrometrie, nukleární magnetická rezonance, infračervená spektroskopie, skenovací elektronová mikroskopie a energiově disperzní spektroskopie) se připravené komplexy a funkcionalizované systémy charakterizovaly.

Klíčová slova:	komplex; ruthenium; iridium; pyridinpropionová kyselina; nanočástice
Počet stran:	44
Jazyk:	Čeština

## **Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Pavel Nawrath

Title: Synthesis of model non-platinum complexes for functionalization of magnetic nanoparticles

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc, Czech Republic

Supervisor: doc. Mgr. Pavel Štarha, Ph.D.

The year of presentation: 2018

**Abstract:** In contemporary biomedicine, chemotherapeutics based on platinum are usually used for the treatment of cancer. In connection with their negative side-effects, development of new, more efficient medicaments has recently become the focus of attention. Thanks to their unique characteristics, ruthenium and iridium complexes are part of this alternative group of non-platinum anticancer agents. Their efficiency can be multiplied using targeted transport in combination with magnetic nanoparticles. The thesis focuses on the synthesis of model Ru<sup>II</sup> complexes containing 3-pyridinepropionic acid or its isomer 4-pyridinepropionic acid (ppa). The prepared complexes, such as [Ru( $\eta^6$ -pcym)Cl<sub>2</sub>(ppa)] and [Ir( $\eta^5$ -Cp\*)Cl<sub>2</sub>(ppa)], interacted with maghemite-based magnetic nanoparticles. The prepared complexes and functionalized nanosystems were characterized using appropriate analytical techniques (elemental analysis, mass spectrometry, nuclear magnetic resonance, infrared spectroscopy, scanning electron microscopy and energy dispersive spectroscopy).

Keywords: complex; ruthenium; iridium; pyridinepropionic acid; nanoparticles

Number of pages: 44

Language: Czech

## OBSAH

<b>1. ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>2. TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1. Ruthenium a iridium</b> .....	<b>8</b>
2.1.1. Ruthenium.....	8
2.1.2. Iridium.....	9
<b>2.2. Protinádorově aktivní komplexy ruthenia a iridia</b> .....	<b>10</b>
2.2.1. Komplexy ruthenia.....	10
2.2.2. Komplexy iridia .....	13
<b>2.3. Pyridinpropionová kyselina a její koordinační chemie</b> .....	<b>14</b>
<b>2.4. Cílený transport léčiv</b> .....	<b>16</b>
2.4.1. Magnetické nanočástice pro cílený transport léčiv .....	17
2.4.2. Nanočástice funkcionalizované komplexy přechodných kovů .....	18
<b>3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>21</b>
<b>3.1. Použité chemikálie a přístroje</b> .....	<b>22</b>
<b>3.2. Syntéza sloučenin</b> .....	<b>23</b>
3.2.1. Syntéza výchozích Ru <sup>II</sup> a Ir <sup>III</sup> dimerů.....	23
3.2.2. Syntéza Ru <sup>II</sup> a Ir <sup>II</sup> komplexů .....	23
3.2.3. Syntéza maghemitových nanočástic .....	28
3.2.4. Navázání komplexů na nanočástici.....	29
<b>4. VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1. Syntéza</b> .....	<b>30</b>
<b>4.2. Charakterizace</b> .....	<b>31</b>
<b>4.3. Funkcionalizované nanočástice</b> .....	<b>33</b>
4.3.1. Skenovací elektronová mikroskopie a energiově disperzní spektroskopie .....	34
<b>5. ZÁVĚR</b> .....	<b>39</b>
<b>6. POUŽITÁ LITERATURA</b> .....	<b>40</b>

## 1. ÚVOD

Rakovina, i přes značnou pokrokovost dnešní vyspělé společnosti a vloženého úsilí ve výzkumu, je stále jedním z hlavních případů smrti na světě. Mezi nejintenzivněji využívaná metaloterapeutická léčiva dnešní doby patří hlavně cisplatina, případně její později objevené modifikace. Nevýhodou léčebné terapie cisplatinou je však výskyt mnoha vedlejších efektů a vzrůstající nástup rezistence, způsobující snižující se efektivitu při dlouhodobé léčbě. Tento fakt souvisí se stále rostoucí snahou o objevení dalšího, podobně účinného léčiva.

Jednou z potenciálně vyhlížejících alternativ jsou bezpochyby komplexy ruthenia, popř. komplexy dalších platinových kovů. Tyto účinné látky jsou vyzdvihovány zejména kvůli odlišnému mechanismu působení, díky čemuž lze očekávat vyšší účinnost při dané léčbě. V souvislosti s možným snížením vedlejších účinků nově vyvíjených cytotoxických komplexů přechodných kovů se objevily mnohé přístupy vedoucí k nižší systémové toxicitě. Jednou z hlavních perspektiv zde je možnost cíleného transportu, což zabraňuje poškozování zdravých buněk, zvyšuje účinnost a zároveň tento přístup nabízí možnost sledovat průběh dané léčby. Důležitou úlohu v tomto způsobu léčby hrají magnetické nanočástice. S vlivem vnějšího magnetického pole umožňují transport léčiva na potřebné místo, kde pomocí dalších mechanismů dochází k jeho uvolnění. [1]

Cíle této bakalářské práce:

- 1) Vypracování literární rešerše zaměřené na funkcionalizaci nanočástic protinádorově aktivními komplexy přechodných kovů.
- 2) Pokusit se o přípravu modelových komplexů pro funkcionalizaci magnetických nanočástic, jako je  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{phen})(\text{X})]^{+/0}$ , kde *pcym* = *p*-cymen, phen = 1,10-fenanthrolin a X = např. 3-pyridinpropanová kyselina.
- 3) Pokusit se o navázání připravených modelových komplexů na magnetické (např. maghemitové) nanočástice.
- 4) Ve spolupráci s vedoucím práce a dalšími zaměstnanci Katedry anorganické chemie PŘF UP v Olomouci připravené sloučeniny a nanočásticové systémy charakterizovat vhodnými analytickými metodami.
- 5) Získané výsledky ve spolupráci s vedoucím práce interpretovat a zpracovat formou bakalářské práce o rozsahu 35-45 stran (termín odevzdání duben 2018).

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1. Ruthenium a iridium

#### 2.1.1. Ruthenium

Ruthenium je poměrně ušlechtilý kov, podobně jako jiné platinové kovy. V závislosti na hustotě jej řadíme do lehkých platinových kovů. V přírodě se platinové kovy vyskytují v ložiscích obvykle společně a kvůli jejich vysoké ceně se používají jen ke speciálním účelům, jako jsou katalyzátory či materiály do chemicky agresivních prostředí díky jejich mimořádné odolnosti. Kovové ruthenium je stříbrolesklé, pasivuje vrstvou netěkavého  $\text{RuO}_2$  a reaguje s kyslíkem jen při teplotách nad 870 K. Kov také reaguje po zahřátí s  $\text{F}_2$  a  $\text{Cl}_2$ , rozpouští se ve směsi  $\text{HCl}$ , oxidačních činidel a v roztavených zásadách. Rozsah oxidačních stavů ruthenia je od II do VIII, kdy nižší oxidační stavy jsou stabilizovány  $\pi$ -akceptorovými ligandy. Některé sloučeniny mohou tvořit vazbu kov-kov [2,3].

Přestože nejvyšším oxidačním stavem Ru je VIII (např. v  $\text{RuO}_4$ ), z binárních halogenidů jsou známy pouze  $\text{RuF}_6$ . Jedná se o nestálou hnědou pevnou látku s oktaedrickou strukturou. Je znám i oxid-fluorid, který je velmi citlivý na vlhkost. Jedná se o  $\text{RuOF}_4$ , který lze připravit z  $\text{RuO}_2$  a  $\text{F}_2$  zředěným argonem při 720 K a má žlutozelenou barvu. Ruthenium tvoří jedovatý, těkavý, žlutý oxid  $\text{RuO}_4$ , který se redukuje snadněji než  $\text{OsO}_4$ . Lze připravit oxidací  $\text{RuO}_2$  nebo  $\text{RuCl}_3$  pomocí  $\text{IO}_4^-$  či  $\text{MnO}_4^-$  v kyselém prostředí. Oxid má pronikavý ozonový zápach, je termodynamicky nestálý za rozkladu na  $\text{RuO}_2$  a  $\text{O}_2$  s tendencí explodovat a špatně se rozpouští ve vodě. Ve vodných roztocích zásad vzniká  $\text{RuO}_4^-$  za uvolnění  $\text{O}_2$  a vody. V pevném stavu má  $\text{RuO}_4^-$  zploštělou tetraedrickou strukturu, ale krystaly „ $\text{K}_2\text{RuO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ “ jsou ve skutečnosti  $\text{K}_2[\text{RuO}_3(\text{OH})_2]$ .  $\text{RuO}_4$  se používá jako oxidační činidlo v organických syntézách a k barvení biologických vzorků. U oxidačních stavů V a IV existují fluoridy pevného skupenství ( $\text{RuF}_5$  a  $\text{RuF}_4$ ), které se připravují přímým slučováním prvků za vysoké teploty. Tvoří polymerní struktury a jsou lehce hydrolyzovatelné. Oktaedrické halogenidové komplexy  $\text{Ru}^V$  jsou reprezentovány  $[\text{RuF}_6]^-$  a v oxidačním stavu  $\text{Ru}^{IV}$  jsou známy všechny ionty  $[\text{RuX}_6]^{2-}$  kromě jodidů.

Pro ruthenium v oxidačním stavu III jsou známy všechny binární halogenidy  $\text{RuX}_3$ , kdy chlorid je komerčně dostupný jako hydrát s proměnlivým složením „ $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ “ ( $x \approx$



3) a je významnou výchozí látkou pro chemii Ru<sup>III</sup> a Ru<sup>II</sup> komplexů. Binární oxidy ani kyslíkaté anionty nebyly pro Ru<sup>III</sup> nebo jejich nižší oxidační stavy popsány. Oproti Os<sup>III</sup> tvoří ruthenium oktaedrický ion [Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup>, který lze připravit oxidací [Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup> vzduchem a ve vodném roztoku se chová kyselě. Ru<sup>III</sup> tvoří řadu komplexů s dalšími ligandy jako např. [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup>, [RuX<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>, [Ru(CN)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup> či s dalšími organickými ligandy, kdy za zmínku stojí komplexy s např. acetylacetonem, ethylendiaminem, pyridinem, popř. bipyridinem. Dále známe také vícejaderné komplexní anionty jako např. [Ru<sub>2</sub>Cl<sub>9</sub>]<sup>3-</sup>. Větší počet komplexů je znám od Ru<sup>III</sup> než od Os<sup>III</sup>, což je dáno relativní stabilitou oxidačních stavů Ru<sup>III</sup> > Os<sup>III</sup> (opačná situace než u oxidačního stavu IV).

Nejvýznamnějším oxidačním stavem ruthenia je stav II. Netvoří binární halogenidy ani oxidy. Pouze zahříváním kovu se sírou vznikají sulfidy se strukturou pyritu. Ze sloučenin Ru<sup>II</sup> jsou nejvýznamnější komplexy, které jsou všechny diamagnetické a až na výjimky jsou všechny oktaedrické v nízkospinové konfiguraci d<sup>6</sup>. Komplexů Ru<sup>II</sup> je známo mnoho. Hydridový anion [RuH<sub>6</sub>]<sup>4-</sup> vzniká zahříváním kovu s MgH<sub>2</sub> pod tlakem vodíku. Příprava komplexů Ru<sup>II</sup> často vychází z vyšších oxidačních stavů. Z RuCl<sub>3</sub>·xH<sub>2</sub>O vzniká redukcí z vodného roztoku po vysrážení Cl<sup>-</sup> iontů [Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, který se na vzduchu snadno oxiduje. Pod vysokým tlakem v atmosféře dusíku reaguje na [Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>5</sub>(N<sub>2</sub>)]<sup>2+</sup>. Většina komplexů s N<sub>2</sub> ligandem se rozkládá při slabém zahřátí, ale komplex s rutheniem lze bez rozkladu zahřát až na 470 K. Komplex [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>, který se rovněž oxiduje na vzduchu, se připravuje RuCl<sub>3</sub>·xH<sub>2</sub>O s práškovým zinkem v koncentrovaném roztoku NH<sub>3</sub>. V reakci s HNO<sub>2</sub> vzniká nitrosylový komplex [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>5</sub>(NO)]<sup>3+</sup>, ve kterém je úhel Ru-N-O skoro 180°. Cheláty [Ru(en)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> (kde en = ethylen-1,2-diamin), [Ru(phen)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> (kde phen = 1,10-fenantrolin) a [Ru(bpy)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup> (kde bpy = 2,2'-bipyridin) se připravují podobně jako [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>. Nejzajímavějším komplexem je ten s bpy, který se vyznačuje svojí fotocitlivostí. Je schopen absorbovat záření o vlnové délce 452 nm, kdy elektron z atomu Ru<sup>II</sup> přechází do orbitalu π\* ligandu bpy [2,3].

### 2.1.2. Iridium

Iridium patří do skupiny těžkých platinových kovů. Jedná se o poměrně nereaktivní stříbrolesklý kov. S kyslíkem nebo halogeny reaguje až za vysokých teplot. Nerozpouští se v lučavce královské, ale rozpouští se v roztavených alkáliích. Počet oxidačních stavů a stabilita oxidačních stavů je nižší než u Ru [2,3].

Iridium ve vyšších oxidačních stavech VI a V tvoří fluoridy, které se připravují přímým slučováním prvků za vysokých teplot. Jsou citlivé na vlhkost a jsou velmi reaktivní. Lze také připravit soli oktaedrického aniontu  $[\text{IrF}_6]^-$  v HF. V oxidačním stavu IV je popsán halogenid  $\text{IrF}_4$ , který se připravuje redukcí fluoridů  $\text{IrF}_5$  či  $\text{IrF}_6$  kovovým Ir. Oxid iridičitý vzniká zahříváním kovu v  $\text{O}_2$  nebo hydrolyzou  $[\text{IrCl}_6]^{2-}$  v zásaditém roztoku. Lze připravit řada paramagnetických nízkospinových  $d^5$  aniontů  $[\text{IrX}_6]^{2-}$  s  $X = \text{F}, \text{Cl}, \text{Br}$ . Soly  $[\text{IrCl}_6]^{2-}$  jsou běžnými výchozími látkami v chemii Ir a s kyselinou hexachloridoiridičitou patří mezi komerčně dostupné. Pro komplexy  $\text{Ir}^{\text{IV}}$  je obvyklá oktaedrická koordinace, kdy mezi známe sloučeniny patří např. červená sůl  $\text{K}_2[\text{Ir}(\text{OH})_6]$ , anion  $[\text{Ir}(\text{NO}_3)_6]^{2-}$  nebo komplex  $[\text{IrCl}_4(\text{phen})]$ .

Nejvýznamnějším oxidačním stavem iridia je stav III. Binární halogenidy lze připravit zahříváním příslušných prvků za vzniku  $\text{IrCl}_3$ ,  $\text{IrBr}_3$  a  $\text{IrI}_3$ . Ve vodě rozpustný  $\text{IrCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  je komerčně dostupnou výchozí látkou pro chemii Ir a vyznačuje se tmavě zelenou barvou. Oxid  $\text{Ir}_2\text{O}_3$  je znám jen v ne zcela čisté pevné formě. Ve vodných roztocích s přítomností  $\text{HClO}_4$  existují kationty  $[\text{Ir}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ , které jsou obsaženy v kamencích.  $[\text{IrCl}_6]^{3-}$  vzniká redukcí oxidem siřičitým čtyřmocného chloridu a ve vodě může hydrolyzovat až na  $[\text{IrCl}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ .  $[\text{IrCl}_6]^{3-}$  se taktéž používá k přípravě oktaedrických komplexů  $\text{Ir}^{\text{III}}$ , které tvoří jak s tvrdými, tak i s měkkými donory např.  $[\text{Ir}(\text{NO}_2)_6]^{3-}$ ,  $[\text{Ir}(\text{acac})_3]$  (kde acac = acetylaceton),  $[\text{IrH}_3(\text{PPh}_3)_3]$ ,  $[\text{Ir}(\text{SCN})_6]^{3-}$  nebo také  $[\text{Ir}(\text{S}_6)_3]^{3-}$ .

Pro oxidační stav  $\text{Ir}^{\text{II}}$  existují komplexy jen vzácně. Nejsou dobře popsány na rozdíl od chemie  $\text{Rh}^{\text{II}}$ , kde jsou prostudovány dimery typu  $[\text{Rh}_2(\mu\text{-RCO}_2)_4]$ . U oxidačního stavu I je Ir ( $d^8$ ) stabilizován  $\pi$ -akceptorovými ligandy, jako jsou fosfany. Žlutý Vaskův komplex, tedy čtvercový komplex  $\text{Ir}^{\text{I}}$  *trans*- $[\text{IrCl}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_2]$  je výchozí sloučeninou pro chemii  $\text{Ir}^{\text{I}}$ . Komplex podléhá oxidačně-adičním reakcím, ve kterých se oxiduje atom iridia na stav III [2,3].

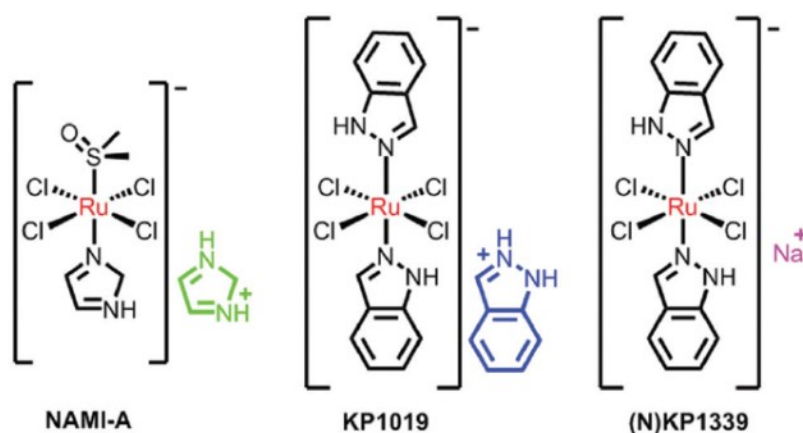
## 2.2. Protinádorově aktivní komplexy ruthenia a iridia

### 2.2.1. Komplexy ruthenia

Obecně platí, že termodynamická a kinetická stabilita komplexů  $\text{Ru}^{\text{III}}$  je nižší než u  $\text{Ru}^{\text{II}}$  komplexů a hydratace sloučenin  $\text{Ru}^{\text{II}}$  a  $\text{Ru}^{\text{III}}$  významně závisí na povaze jejich ligandů, které jsou aktivní v prostředí nádoru. Záleží taktéž i na oxidačním stavu centrálního kovu. Z *in vivo* testování se prokázaly protinádorové vlastnosti komplexů  $\text{Ru}^{\text{III}}$

poté, co se sloučeniny zredukovaly na odpovídající oxidační stav  $\text{Ru}^{\text{II}}$ . Za biologických podmínek s nízkým obsahem koncentrace kyslíku, společně s kyselým pH a vysokou hladinou glutathionu mohou být komplexy  $\text{Ru}^{\text{III}}$  snadno zredukovány na komplexy  $\text{Ru}^{\text{II}}$ .

Jako první schválený komplex ruthenia v klinických studiích, NAMI-A,  $(\text{ImH})(\text{trans}-[\text{RuCl}_4(\text{DMSO})(\text{Im})])$  (Im = imidazol, DMSO = dimethyl sulfoxid; obr. 1) má nízkou účinnost, pokud jde o přímou cytotoxicitu vůči rakovinným buňkám *in vitro*. Nicméně *in vivo* prokazuje významnou účinnost při inhibici nádorových metastáz. Mechanismus působení není zcela objasněn, avšak existují údaje, které naznačují schopnost NAMI-A vázat se na DNA a RNA nebo na histidinové zbytky sérového albuminu. Přesto nízké terapeutické účinnosti NAMI-A mělo za následek vyřazení z klinického testování [4].

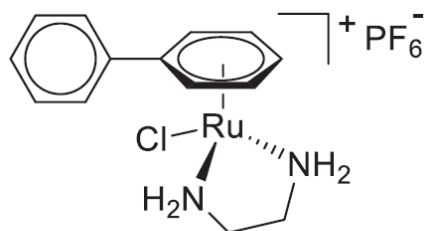


Obr. 1: Strukturální vzorce  $\text{Ru}^{\text{III}}$  komplexů v klinickém testování, převzato z: [4]

Dále do klinického testování vstoupil KP1019, což je indazoliová sůl komplexu *trans*-tetrachlorbis-(1*H*-indazol)ruthenitého (obr. 1), který byl navržen a připraven vídeňským týmem okolo Prof. Keplera [5]. Nízká rozpustnost omezila jeho další vývoj, v současné době však prochází klinickým testováním analogický komplex ve formě sodné soli s označením KP1339 (obr. 1) [6].

Polosendvičové  $\text{Ru}^{\text{II}}$  komplexy mají obecný vzorec  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-ar})(\text{X})(\text{Y})(\text{Z})]$ ; ar = arenový kruh. Mezi běžné arenové kruhy patří benzen (ben), methylisopropyl benzen (cym), bifenylyl (bip) a dihydroanthracen (dha). Ligandy X a Y mohou být dva monodentátní ligandy či jeden bidentátní ligand. Z je obvykle odstupující skupinou, jako je např. halogen [7]. Arenové kruhy jsou hydrofobní, což usnadňuje vstup komplexu do

buněk. Nicméně, typem arenového kruhu je také ovlivněna hydrolyza vazeb Ru–Z. Také velikost a rozpustnost ligandu ve vodě různě ovlivňuje protinádorovou účinnost Ru<sup>II</sup> komplexů [8]. Mezi běžné N,N-chelatační ligandy patří alifatické diaminy, aromatické diaminy a deriváty pyridinu. Kationtový komplex [Ru( $\eta^6$ -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)(en)Cl]<sup>+</sup> má protinádorovou účinnost proti rakovinovým buňkám A2870, s hodnotou IC<sub>50</sub> = 17  $\mu$ M. Další sloučeninou podobnou předchozímu komplexu s nahrazením benzenu za hydrofobnější bifenylovou skupinu je RM175 (obr. 2). Má podobnou protirakovinovou účinnost jako karboplatina v A2780 buňkách [9]. Studie cytotoxicity ukázala, že ethylendiamin, hydrofobní areny a odstupující skupina chloru mají významnou roli v interakci nukleových kyselin s Ru<sup>II</sup> komplexy [4]. Romero-Canelón a kol. prokázali, že změna monodentátních (Z) ligandů Cl za I vedla k výrazným změnám metabolismu buňky a také mechanismu protirakovinového účinku. Jodidový komplex byl účinnější a selektivnější na rakovinové buněčné linie než chloro analog a zároveň nebyl rezistentní vůči léčivům platiny. Pro přechod do buňky využil pasivního transportu, což vyústilo ve větší akumulaci (1,6-krát) v buňkách A2780 oproti chloro komplexu [10].



RM175

Obr. 2: Strukturní vzorec RM175, převzato z: [11]

V další studii byly popsány komplexy [Ru(cym)(isonikotinamid)Cl<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> a [Ru(CH<sub>3</sub>CN)<sub>2</sub>(cym)X]PF<sub>6</sub>, kde X značí chloro či bromo ligand. Tyto komplexy byly v buněčné linii A2780 neaktivní.

RM175 bylo dále zkoumáno *in vivo* u xenoimplantátů lidského karcinomu vaječníku A2780 a A2780cis, kde tato látka nevykazovala křížovou rezistenci na cisplatinu a toleranci s vyššími dávkami, ačkoli je přibližně z poloviny účinná jako cisplatin. Při studii byla sloučenina podávána v jednorázových dávkách 25 mg.kg<sup>-1</sup> i.p. po prvním

a pátém dni a porovnávalo se s 10 mg.kg<sup>-1</sup> cisplatiny. Závěr byl takový, že inertní chelatační ligand, stejně jako jedna odstupující skupina poskytla nejaktivnější sloučeninu z této skupiny komplexů [12]. V roce 2006 byl RM175 a jeho analogový HC11 - [Ru(η<sup>6</sup>-tetrahydroanthracen)(en)Cl]PF<sub>6</sub> - zkoumán na 13 buněčných liniích. Obě látky byly zvláště aktivní u rakoviny prsu a plic. Obě sloučeniny v modelu A549 *in vivo* vykazovaly významné zpoždění růstu nádoru po jednorázové dávce, HC11 však způsobila zvýšenou hepatotoxicitu ve srovnání s RM175, pravděpodobně způsobené obsahem více lipofilního arenu [13,14].

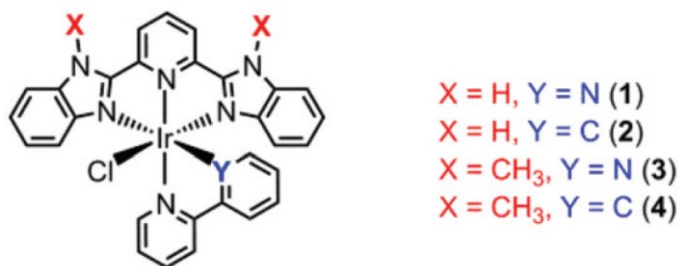
Nakonec se u RM175 studoval i antimetastatický účinek u karcinomu prsu při denní dávce 10 mg.kg<sup>-1</sup> během 5 dnů. Bylo prokázáno, že RM175 snižuje růst primárního i celkového růstu sekundárních nádorů [15]. RM175 obsahuje jedn odstupující halogeno ligand, u které se věří, že poskytuje jiný mechanismus účinku než protirakovinová látka RAPTA-T a to pouze monofunkční vazbou na DNA, zejména na guanin-N7. Možnost vzniku vodíkových vazeb mezi protony ethylendiaminu v RM175 a protony guanosinu-O6 se zdají být zodpovědné za selektivitu pro adenosin a thymidin, zatímco reaktivita byla stanovena v pořadí guanosin-N7 > thymidin-N3 > adenosin-N7/N1 [16,17]. Byly provedeny i další studie, které zkoumaly interakce mezi RM175 a biologickými nukleofily, tj. L-cystein (Cys), L-histidin (His) a cytochrom C (Cyt C), o kterých se nepředpokládalo, že jsou primárními cíli pro sloučeninu, ale mohou poskytnout přehled o typech nespecificky vytvořených aduktů s biomolekulami. [18] Tvoření těchto sloučenin předchází hydrolyza Ru-Cl vazby, následována koordinací nukleofilního atomu preferující N nebo S donor přednostně v kyselém prostředí. Cys dokázal vytěsnit inertní en ligand za vzniku Ru-Cys. Naproti tomu reakce RM175 s Cys byla potlačena roztokem pufru při pH > 5 nebo v 100 mM roztoku chloridu sodného. Reaktivita RM175 směrem k Cyt C byla charakterizována tvorbou [Cyt C + Ru(bip)(en) + nPF<sub>6</sub>], kde n = 0-3. Předpokládá se, že tvorba těchto aduktů pravděpodobně zahrnuje N-konec nebo postranní řetězce karboxylové kyseliny na proteinu, zatímco u His koordinace neproběhla [14,19].

### 2.2.2. Komplexy iridia

Ačkoli bylo popsáno mnoho komplexů Ir<sup>III</sup> s bidentátními ligandy jako cytotoxicky účinné látky (stejně jako výše pro Ru<sup>II</sup> komplexu), existují i případy komplexů s ligandy tridentátními. Komplexy Ir<sup>III</sup> mají unikátní fotofyzikální vlastnosti, které by mohly být použity při známém procesu léčby rakoviny, a to fotodynamické terapii (PDT) [20]. PDT

se díky své neinvazivní povaze považuje za alternativu ke konvenčním protinádorovým terapiím [21]. Po ozáření proléčiva se mohou vytvářet reaktivní druhy kyslíku (ROS), zejména singletového kyslíku, který způsobuje zahájením apoptózy buněčnou smrt [22]. S kombinací lokalizovaného dodání léčiva by se mohly minimalizovat vedlejší účinky na zdravé tkáni [23].

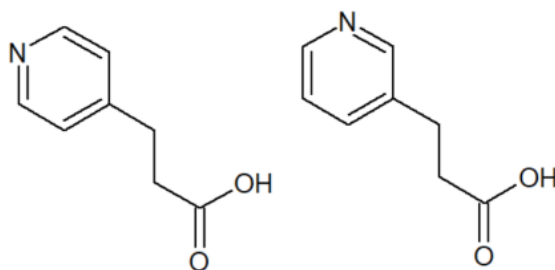
Byla navržena řada slibných komplexů iridia jako např.  $[\text{Ir}(\text{L}_1)(\text{bpy})\text{Cl}](\text{PF}_6)_2$ ,  $[\text{Ir}(\text{L}_1)(\text{ppy})\text{Cl}]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Ir}(\text{L}_2)(\text{bpy})\text{Cl}](\text{PF}_6)_2$  a  $[\text{Ir}(\text{L}_2)(\text{bpy})\text{Cl}]\text{PF}_6$ , kde  $\text{L}_1 = 2,6\text{-bis}(2\text{-benzimidazol})\text{pyridin}$ ,  $\text{L}_2 = 2,6\text{-bis}(1\text{-methyl-benzimidazol-2-yl})\text{pyridin}$ ,  $\text{bpy} = 2,2'\text{-bipyridin}$  a  $\text{ppy} = 2\text{-fenylpyridin}$  (obr. 3). Bidentátní izoelektronové ligandy  $\text{bpy}$  a  $\text{ppy}$  se používají pro ladění celkového náboje a lipofility těchto sloučenin. U komplexů, které obsahují  $\text{L}_1$ , se očekává uvolnění v lysozomech díky imidazolové skupině, kdy dochází k protonizaci či deprotonizaci v excitovaném stavu [24]. Komplexy s ligandem  $\text{L}_2$  se emitují v mitochondriích N-methylací skupiny [25]. Mechanismy působení těchto komplexů nejsou zcela známy a zatím se nadále studují [26].



Obr. 3: Strukturální vzorce komplexů  $[\text{Ir}(\text{L}_1)(\text{bpy})\text{Cl}](\text{PF}_6)_2$ ,  $[\text{Ir}(\text{L}_1)(\text{ppy})\text{Cl}]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Ir}(\text{L}_2)(\text{bpy})\text{Cl}](\text{PF}_6)_2$  a  $[\text{Ir}(\text{L}_2)(\text{bpy})\text{Cl}]\text{PF}_6$ , upraveno a převzato z: [26]

### 2.3. Pyridinpropionová kyselina a její koordinační chemie

Kyselina pyridinpropionová (ppa) je organická sloučenina se sumárním vzorcem  $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$ . Je to derivát pyridinu se substituentem karboxylové kyseliny v poloze 4 (4-ppa), 3 (3-ppa) nebo 2. Molární hmotnost této sloučeniny je  $151,16 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  a všechny tři izomery jsou bílé krystalické látky. Izomery 2 a 3 mají teplotu tání kolem  $150 \text{ }^\circ\text{C}$ , kdežto izomer 4 přechází do kapalného skupenství až při  $230 \text{ }^\circ\text{C}$ . Neopatrná práce s těmito látkami by mohla vyústit v poleptání nebo vážné podráždění očí [27].

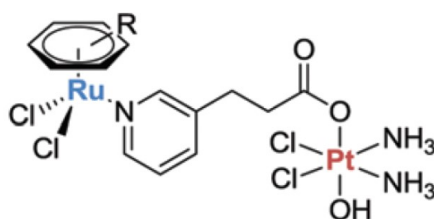


Obr. 4: Strukturální vzorce 4-ppa (vlevo) a 3-ppa (vpravo)

Koordinační sloučeniny se často skládají jak z organických, tak z anorganických částí, které jsou spojovány multifunkčními linkery [28]. Tyto systémy přitahují výzkumníky v různých oborech díky jejich zajímavým vlastnostem [29]. Úspěšná příprava těchto látek vyžaduje vhodnou kombinaci kovového atomu a organického můstkujícího ligandu se správnými terminálními skupinami. Z tohoto pohledu je vhodným můstkujícím ligandem kyselina pyridinpropionová, které obsahuje dvě funkční skupiny - pyridin obsahující atom dusíku a karboxylová skupina obsahující dva atomy kyslíku. Pyridinpropionová kyselina může působit jako dobrý bidentátní chelátový ligand nebo jako můstkující ligand, který je navázán přes pyridinový a karboxylový konec [30]. Syntéza takových může být racionálně vysvětlena na základě univerzální teorie HSAB (hard-soft acid-base), tedy konceptu vysvětlující vaznost tvrdších O-donorů karboxylové skupiny k těžším kovům blíže k f-bloku a měkčích N-donorů pyridinu ke kovům opačné strany chemické tabulky prvků [31]. Kromě toho je aromatická část ligandu příznivá z důvodu rigidity pro předem navržené krystalické struktury. Nicméně alkyl-karboxyláty dodávají strukturám pružnost, což vyplývá z volné rotace  $sp^3$  alkylových uhlíkových atomů. Proto se očekávají zajímavé koordinační chování u ligandů nesoucí pyridyl-karboxylové skupiny [32].

Jak příklad komplexů s pyridinpropionovou kyselinou lze uvést např. komplexy platiny  $c,c,t$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)(3-ppa)], který byl připraven reakcí  $c,c,t$ -[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] s *N*-hydroxysukcinimidovým esterem kyseliny 3-pyridinpropionové. Dalšími významnými komplexy jsou heterobimetalické systémy, které byly získány reakcí výše zmíněných Pt<sup>IV</sup> komplexů s různými arenovými dimery Ru<sup>II</sup> (obr. 5). Byla také připravena sloučenina, která obsahuje místo dvou chloro ligandů jeden oxalato ligand. Testy cytotoxicity vykazují mnohem vyšší cytotoxicitu ve většině lidských

rakovinových buňkách ve srovnání s cisplatinou, dokonce u některých buněk až 32krát zvýšenou cytotoxicitu. Ještě zajímavější je však případ u buněk rezistentních na cisplatinu A2780cisR a A549cisR, jejíž aktivita byla 107krát vyšší oproti cisplatině. Rezistenční faktor (RF), definovaný jako poměr hodnoty IC<sub>50</sub> v buňkách rezistentních na cisplatinu k hodnotám v buňkách citlivých na cisplatinu, je 17 pro cisplatinu, kdežto u ruthplatin se tato hodnota dramaticky snížila na 1,3. Zvýšená toxicita zároveň se sníženou hodnotou RF je také pozorována u buněk A549 a A549cisR. Mimo jiné se ruthplatin ukázala účinná také u jiných rakovinových buněk, jako např. u karcinomu prsu, karcinomu děložního čípku a u plicního či kožního fibroplasty (tab. 1) [33].



Obr. 5: Obecný strukturní vzorec heterobimetalických Ru-Pt komplexů s 3-ppa můstkujícím ligandem; R = benzen, methylbenzen nebo p-cymen, upraveno a převzato z: [33]

Tab. 1: Tabulka hodnot IC<sub>50</sub> (hodnota vyjádřena jako koncentrace cisplatiny cDDP) pro komplexy ruthplatin, převzato z: [33]

Cell line	Type	cDDP	Ruthplatin 1 (FI <sup>a</sup> )	Ruthplatin 2 (FI)	Ruthplatin 3 (FI)	Ruthplatin 4 (FI)
A2780	Ovarian carcinoma	0.92 ± 0.30	0.12 ± 0.02 (7.7)	0.12 ± 0.03 (7.7)	0.12 ± 0.02 (7.7)	0.09 ± 0.03 (10)
A2780cisR	Ovarian carcinoma	16 ± 5	0.43 ± 0.01 (37)	0.15 ± 0.09 (107)	0.32 ± 0.06 (50)	0.19 ± 0.03 (84)
RF <sup>b</sup>		17	3.6	1.3	2.7	2.1
A549	Lung carcinoma	4.3 ± 0.5	1.0 ± 0.2 (4.2)	1.3 ± 0.1 (3.3)	1.5 ± 0.1 (2.9)	0.60 ± 0.09 (7.2)
A549R	Lung carcinoma	24 ± 3	1.4 ± 0.1 (17)	1.6 ± 0.5 (15)	2.9 ± 0.6 (8.2)	1.0 ± 0.3 (24)
RF		5.6	1.4	1.2	2.0	1.7
MDA-MB-231	Breast adenocarcinoma	9.2 ± 2.4	0.55 ± 0.2 (17)	ND <sup>c</sup>	ND	ND
MCF-7	Breast adenocarcinoma	9.6 ± 0.8	0.41 ± 0.04 (23)	ND	ND	ND
HeLa	Cervical adenocarcinoma	3.4 ± 0.1	0.74 ± 0.10 (4.5)	0.91 ± 0.20 (3.7)	0.92 ± 0.04 (3.6)	0.35 ± 0.04 (9.6)
HL-60	Promyelocytic leukemia	4.1 ± 1	0.17 ± 0.03 (24)	0.14 ± 0.01 (30)	0.16 ± 0.03 (26)	0.13 ± 0.02 (32)
MRC-5	Lung fibroblast	1.0 ± 0.3	1.7 ± 0.7 (0.6)	4.2 ± 1.1 (0.2)	1.5 ± 0.7 (0.7)	3.1 ± 2 (0.3)
SI <sup>d</sup>		0.23	1.7	3.2	1.0	5.2
Hs27	Skin fibroblast	12 ± 1	5.4 ± 1.9 (2.2)	7.0 ± 1.7 (1.7)	7.4 ± 1.7 (1.6)	13 ± 2 (0.9)

#### 2.4. Cílený transport léčiv

Vývoj účinné léčby onemocnění byl a je jedním z hlavních cílů lidské společnosti. Porozumění lidského těla a jeho funkcí vedlo k vývoji široké škály léčiv v boji proti různým onemocněním. Při objevu nových nemocí, které představují globální hrozbu,



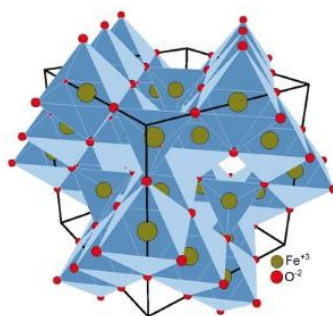
vzniká poptávka po nových a účinnějších léčivech. Rakovina, označována jako nekontrolovaný buněčný růst, představuje hlavní příčinu úmrtí ve vyspělých zemích [34,35]. Účinnost konvenční chemoterapie je snížena nespecifickou distribucí a rychlým „vymizením“ mnoha protirakovinových léčiv. V důsledku toho se v posledních desetiletích věnuje úsilí pochopení mechanismů této nemoci a zkoumání nových metod pro léčbu rakoviny. Díky nedávným pokrokům ve vývoji nových technik bylo vyvinuto mnoho druhů nosičů léku jako např. polymery rozpustné ve vodě, polymerní nanočástice a micely, virové nanočástice, systémy na bázi uhlíku (nanotrubičky a oxidy grafenu), nanočástice na bázi křemíku, zlata, ale i magnetické nanočástice železa, které lze využít ke sledování účinků léčby nebo zvýšení samotné účinnosti léčiva [36,37,38]. Spolu s pokroky v buněčné a molekulární biologii nabízí tento vývoj příležitost syntetizovat sofistikované systémy, které by patřily mezi bezpečnější a efektivnější formy léčby rakoviny [39].

#### **2.4.1. Magnetické nanočástice pro cílený transport léčiv**

Jedna z nejrozsáhlejších skupin nanosystémů vhodných pro podávání léků jsou anorganické nanočástice (INPs). Výhodou INPs spočívá ve vylepšení dodání léčiva na místo potřeby. Nesmíme opomenout i snadnější zobrazování a sledování léčby. Široce používané jsou superparamagnetické nanočástice oxidu železa (SPIONs), které mohou být připraveny v různých velikostech. Strategie se spoléhá na jejich silnou magnetickou odezvu po aplikování malého magnetického pole. Vnější magnetické pole uchová nanočástice v místě nádoru a jakmile je léčivo nakoncentrováno, proběhne uvolnění buď enzymatickou aktivitou nebo změnami ve fyziologických podmínkách (např. změna pH nebo teploty). První pokusy tohoto cílení byly brzděny slabými magnety nebo nevhodnými gradienty. Avšak pokrok v konstrukci magnetů umožnil použití metody magnetických nanočástic na špatně dostupná místa lidského těla jako je mozek či hluboko uložené orgány [39].

Nanočástice založené na  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  a  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (obr. 6) se ukázaly být obzvláště slibné díky jejich magnetickým vlastnostem. Jsou ferrimagnetické a jejich nanočástice vykazují superparamagnetické chování. SPIONs jsou navíc netoxické, biokompatibilní a biologicky odbouratelné, kdy se z těla efektivně vyloučí cestami metabolismu Fe [40,41]. Alternativou jsou nanočástice založené na kobaltu nebo niklu. Jsou ale toxičtější než oxidy železa a musely by se funkcionalizovat s jinými sloučeninami, aby se snížila jejich toxicita. Účinnost magnetického cílení závisí na několika parametrech. Vedle samotných

magnetických vlastností nosiče je třeba zmínit sílu a gradient aplikovaného magnetického pole, hydrodynamické a fyziologické parametry a objem nádoru [39].



Obr. 6: Znáornění struktury  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, převzato z: [42]

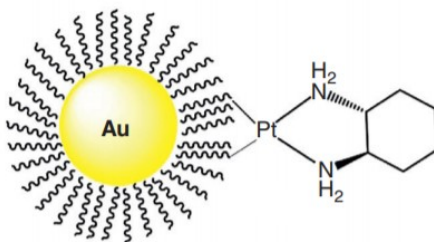
#### 2.4.2. Nanočástice funkcionalizované komplexy přechodných kovů

Cisplatina, *cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>], je dobře známá pro svou protinádorovou aktivitu. Hydrolýzou se vytvoří aktivní aqua komplex, který se poté naváže na řetězec DNA a vyvolá apoptózu rakovinné buňky [43]. V oblasti cíleného transportu bylo popsáno doručení tohoto léčiva za použití např. uhlíkové nanotrubičky (CNTs). Tripisciano a kol. se podařilo zapouzdřit cisplatinu do jedностěnných uhlíkových nanotrubiček (SWCNTs) a ukázalo se, že zapouzdřená cisplatina měla větší cytotoxické účinky na rakovinové buňky než ta volná [44]. Snižování velikosti CNTs činí větší pravděpodobnost, že do buněk přejdou snadněji.

Guven a kol. syntetizovali ultra krátké CNTs o průměru cca 1,4 nm, do které byla zapouzdřena cisplatina a navíc byly obaleny dalšími povrchově aktivními látkami. Tento systém vykazoval větší účinnost u buněčných linií rakoviny prsu a obalení, které zpomalilo uvolňování cisplatiny, vedlo k vyšší cytotoxicitě. Pro studium *in vivo* by mohly být molekuly surfaktantu nahrazeny specifickými proteiny [45].

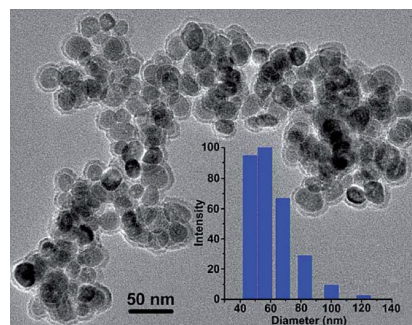
Li a kol. zachytili hydrofobní Pt<sup>IV</sup> na bázi cisplatiny uvnitř dutiny víceštěnných CNTs (MWCNTs). Chemickou redukcí na Pt<sup>II</sup> se léčivo přeměnilo na hydrofilní a cytotoxickou formu a díky hydrofilitě bylo umožněno uvolňování z MWCNTs. *In vitro* studie odhalily účinné dodání do rakovinových buněk lidského karcinomu vaječníku A2780 ve srovnání s volným léčivem Pt<sup>IV</sup>, který byl snadně rozptýlen do okolního prostředí nádoru [46].

V další studii, Brown a kol. funkcionalizovali nanočástice zlata s thiolovaným polyethylenglykolem (PEG) vázané na oxaliplatinu (obr. 7). Bylo zjištěno, že tyto systémy byly téměř 6x více aktivní vůči rakovinovým buňkám plic A549 než volná oxaliplatina. Tyto závěry demonstrovaly zvýšenou účinnost platinových komplexů konjugovaných s Au nanočásticemi [47,48].



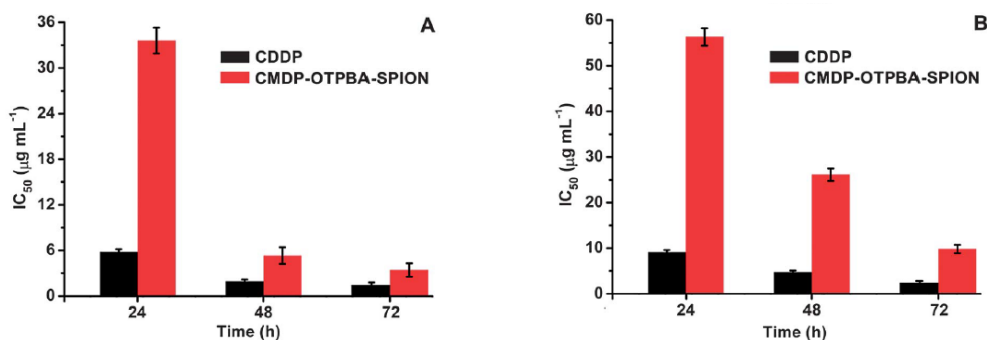
Obr. 7: Znárodnění struktury oxaliplatiny navázané na nanočástici zlata s PEG, upraveno a převzato z: [48]

Wang a kol. vyzkoušeli navázat dechlorovanou cisplatinu (CMDP) na nanočástice maghemitu modifikované 4-oxo-4-(triethoxysilyl)propylamino)-butanovou kyselinou (OTPBA-SPION). CMDP byla navázána na systém OTPBA-SPION ve dvou krocích. Nejprve byla cisplatinu aktivována odstraněním jednoho z chloro ligandů za vzniku CMDP [49–52]. Poté byla CMDP funkcionalizována s OTPBA-SPION koordinací s karboxylovými skupinami za vzniku finálního nanokompozitu CMDP-OTPBA-SPION [52]. Tvar a disperzibilita kompozitu byly zkoumány pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM) (obr. 8). Průměr CMDP-OTPBA-SPION, který odpovídal 60,2 nm, byl určen pomocí metody využívající dynamický rozptyl světla. Což naznačuje, že kompozit existuje ve formě jednotlivých částic a disperguje odděleně ve vodné suspenzi. Protinádorový potenciál CMDP-OTPBA-SPION byl testován na karcinomu prsu buněčné linie MCF-7 a karcinomu děložního čípku buněčné linie HeLa. Samotný OTPBA-SPION nevykazuje téměř žádnou cytotoxicitu proti nádorovým buňkám. Naopak CMDP-OTPBA-SPION demonstruje pozoruhodnou účinnost proti



Obr. 8: TEM snímek CMDP-OTPBA-SPION nanosystémů, upraveno a převzato z: [52]

výše uvedeným buněčným liniím (obr. 9). Výsledky ukazují, že cytotoxicita je časově závislá, zatímco s cisplatinou (CDDP) je relativně stabilní. CMDP-OTPBA-SPION vytváří svůj cytotoxický účinek pomaleji než CDDP, protože potřebuje více času na vstup do buněk a uvolnění léčiva. Uvolnění může být usnadněno kyselým prostředím rakovinových buněk, který je podobný mechanismu uvolňování navrženému pro jiné systémy s cíleným transportem léčiva [50,51,52].

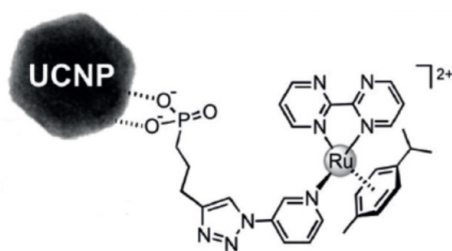


Obr. 9: Cytotoxicita CMDP-OTPBA-SPION nanosystémů (v porovnání s cisplatinou, CDDP) proti MCF-7 (A) a HeLa (B) rakovinové buněčné linie, upraveno a převzato z: [52]

Xing a kol. syntetizovali nanokrystalové klastry modifikované karboxymethylcelulózou, ve které byl  $[PtCl(NH_3)_2]^+$  navázán přes karboxylovou skupinu. Uvolnění léčiva bylo usnadněno kyselým prostředím nádoru a klastry vykazovaly větší aktivitu než volná cisplatina [49]. Magnetické nanosystémy s oxaliplatinou vykazovaly desetinásobnou cytotoxicitu oproti volné oxaliplatině v rakovinových buňkách pankreatu [48,53].

Byly vyvinuty i další slibné fotochemoterapeutické komplexy přechodných (Mn, Pt, Ru, Rh a Ir) a vnitřně přechodných kovů (Yb, Tm, Er, Gd), kdy několik výzkumných skupin na celém světě prokázalo, že světelně aktivované komplexy vykazují jedinečné fotochemické a protinádorové vlastnosti s nekonvenčními mechanismy působení vhodné pro fotodynamickou terapii (PDT) [54,55]. Komplexy kovů, jejichž absorpční pásy jsou v rozmezí červené a blízké infračervené oblasti ( $\lambda = 600\text{--}1000\text{ nm}$ ), představují jistá omezení pro jejich využití při PDT kvůli maximální penetraci světla do tkání v tomto rozsahu. Z tohoto důvodu se nedávno začaly zkoumat tzv. upkonverzní nanočástice (UCNPs) pro fotoaktivaci v blízké infračervené oblasti (NIR) [56,57]. Nanokrystaly

UCNPs (typicky NaYF<sub>4</sub> nebo NaGdF<sub>4</sub>) s kovy v jejich kavitě, které konvertují NIR světlo na UV/Vis světlo emitované při excitaci by mohly podpořit fotochemické reakce a tak vylepšit jejich biologické účinky [58,59]. Tento fakt byl prokázán u komplexu *trans*-[Mn(2,2'-bpy)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(CO)<sub>2</sub>] (kde bpy = bipyridin), kdy NIR ozařováním došlo k uvolnění molekuly CO [60]. Podobně se prokázalo uvolňování pyridinu z Ru-polypyridinového komplexu [61]. Pyridinové Ru<sup>II</sup>-arenové deriváty vykazují stabilitu ve tmě a selektivně uvolňují pyridinové ligandy při excitaci viditelného světla, čímž vznikají vysoce reaktivní aqua systémy [62]. Pro tento účel byly připraveny deriváty [Ru(η<sup>6</sup>-pcym)(bpy)(*m*-CCH-Py)][PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub> a [Ru(η<sup>6</sup>-pcym)(bpm)(*m*-CCH-Py)][PF<sub>6</sub>]<sub>2</sub> (kde pcym = *p*-cymen, bpy = bipyridine, bpm = 2,2'-bipyrimidin a *m*-CCH-Py = 3-ethynylpyridin, obr. 10). Monodentátní 3-ethynylpyridinové rameno s fosfátovou skupinou, které má vysokou afinitu k povrchu UCNPs, slouží k funkcionalizaci nanočástic [63]. Výsledné systémy uchycené na NaYF<sub>4</sub> vykazovaly aktivaci při λ = 980 nm, čímž vznikl reaktivní aqua komplex [Ru(η<sup>6</sup>-pcym)(bpm)(H<sub>2</sub>O)]<sup>2+</sup>, který se navázal na bázi DNA (guanosin 5'-monofosfát) [64].



Obr. 10: Znárodnění struktury [Ru(η<sup>6</sup>-pcym)(bpm)(*m*-CCH-Py)]<sup>2+</sup> funkcionalizováno s UCNP, upraveno a převzato z: [64]

Existuje mnoho dalších typů nanonosičů pro cílené dodání cisplatin, oxaliplatin případně jiných nádorově aktivních komplexů. Studovalo se navázání léčiv na magnetické nanočástice fosforečnanu vápenatého, liposomy a polymerní nanogely konjugovány s kyselinou listovou. Dále též peptidy, resp. polyakrylamidové nanočástice, nanopolymerní systémy, které navážou léčivo pomocí hydroxypropylmethakrylamidové skupiny, známé také pod názvem Pro-Lindac a v neposlední řadě i amfifilní nanomicely [48].

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1. Použité chemikálie a přístroje

Použité chemikálie:

Hydratovaný chlorid ruthenitý ( $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) (99%), hydratovaný chlorid iriditý ( $\text{IrCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ),  $\alpha$ -terpinen (<95%), pentamethylcyklopentadien (95%), 1,10-fenantrolin (99%), dusičnan stříbrný (99%), ethylen-1,2-diamin (99%), 3-pyridinpropionová kyselina (97%), 4-pyridinpropionová kyselina (95%), hexafluorofosforečnan amonný (99,5%), hexafluorofosforečnan draselný (99,5%), tetrafenylboritan sodný ( $\geq 99,5\%$ ), hexahydrát chloridu železitého (97%), tetrahydrát chloridu železnatého (98%), vodný roztok amoniaku (25%), kyselina dusičná (65%), triethylamin ( $\geq 99,5\%$ ), dichlormethan (DCM), isopropanol, methanol a diethylether byly zakoupeny z komerčních zdrojů (Sigma-Aldrich, Acros Organics, Fischer Scientific), a byly použity bez dalších úprav.

Přístroje:

Elementární analýza (C, H, N) byla provedena na přístroji Flash 2000 (Thermo Finnigan).

$^1\text{H}$  NMR spektroskopie byla provedena na přístroji JOEL JNM-ECA 600II při 600,00 MHz ( $^1\text{H}$ ). Vzorky pro NMR experimenty byly rozpuštěny v DMSO-*d*<sub>6</sub> a analyzovány při teplotě 300 K. Štěpení signálu v  $^1\text{H}$  NMR spektrech je definované jako s = singlet, d = dublet, t = triplet, br = široký signál, m = multiplet.

Hmotnostní spektrometrie roztoků studovaných látek byla provedena přístrojem LCQ Fleet (Thermo Scientific) technikou ionizace elektrosprejem v pozitivním (ESI+) módu. Všechna hmotnostní spektra byla interpretována pomocí programu QualBrowser (verze 2.0.7, Thermo Fischer Scientific).

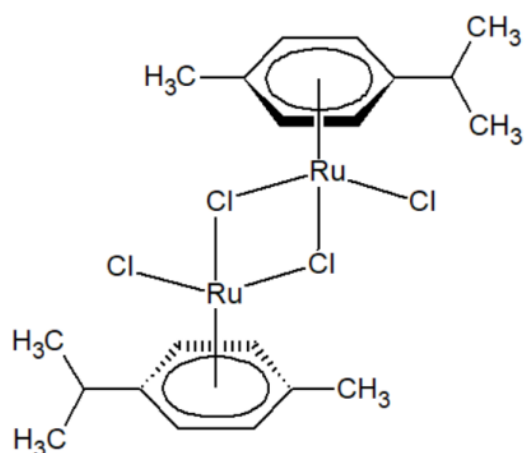
Metoda skenovací elektronové mikroskopie (SEM) byla využita za pomoci mikroskopu Tescan VEGA 3 LM a zároveň s energiově-disperzním spektrometrem (EDS) Bruker XFlash 6|10. Vzorky pro SEM/EDS byly připraveny vložním na hliníkový podstavec, který byl opatřen uhlíkovou oboustrannou pásku.

Infračervená spektra byla změřena na přístroji Nexus 670 FT-IR (Thermo Nicolet) rozsahu vlnočtů 400–4000  $\text{cm}^{-1}$  za použití techniky ART.

### 3.2. Syntéza sloučenin

#### 3.2.1. Syntéza výchozích Ru<sup>II</sup> a Ir<sup>III</sup> dimerů

[Ru( $\eta^6$ -pcym)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> byl připraven rozpuštěním 1 g RuCl<sub>3</sub>·*n*H<sub>2</sub>O (4,82 mmol) v 10 ml methanolu v 30 ml vialce pro mikrovlnnou syntézu. Poté bylo do roztoku přidáno 1,9 ml (11,68 mmol)  $\alpha$ -terpinenu a vialka byla ponechána reakci v mikrovlnném syntetizátoru při 140 °C po dobu 3 minut. Vzniklá červená krystalická látka byla dekantována, odsána na fritě, promyta diethyletherem a vysušena pod vakuem. Výtěžnost reakce byla 61 %.



Obr. 11: Strukturální vzorec dimeru [Ru( $\eta^6$ -pcym)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>

[Ir( $\eta^5$ -Cp\*)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> byl připraven analogickým postupem reakcí 0,5 g (1,4 mmol) IrCl<sub>3</sub>·*n*H<sub>2</sub>O v 10 ml methanolu a 0,7 ml (4,3 mmol) pentamethylcyklopentadienu. Produktem je červená krystalická látka. Výtěžnost reakce byla 55 %.

#### 3.2.2. Syntéza Ru<sup>II</sup> a Ir<sup>III</sup> komplexů

Popsány budou syntézy pouze s 4-pyridinpropionovou kyselinou, avšak ve většině případů probíhaly obdobně také s 3-pyridinpropionovou kyselinou.

[Ru( $\eta^6$ -pcym)Cl(phen)]PF<sub>6</sub> (**1**): 306,2 mg [Ru( $\eta^6$ -pcym)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (0,5 mmol) bylo rozpuštěno v 10 ml methanolu a do roztoku byl přidán 270,3 mg 1,10-fenantrolinu (1,5 mmol). Tato směs reagovala v mikrovlnném syntetizátoru při 100 °C po dobu 1 minuty. Následně byl roztok přefiltrován a k filtrátu se přidal nadbytek hexafluorofosforečnanu draselného (460,2 mg; 2,5 mmol), kdy se nezreagovaný KPF<sub>6</sub>

po 15 minutách míchání odfiltroval. Ze vzniklého oranžového roztoku se vyzolovala (po zredukování objemu a vysrážení komplexu ve větším objemu diethyletheru) oranžová krystalická látka, která se odsála na fritě, byla následně promyta diethyletherem a vysušena pod vakuem. Výťažnost reakce byla 85 %.

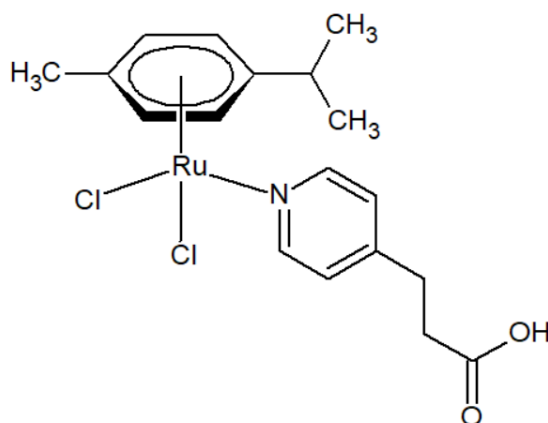
$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  9,98 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H, phen), 8,96 (d,  $J = 7,3$  Hz, 2H, phen), 8,32 (s, 2H, phen), 8,19 (d,  $J = 7,8$  Hz, 2H, phen), 6,39 (d,  $J = 6,4$  Hz, 2H, pcym), 6,13 (d,  $J = 6,4$  Hz, 2H, pcym), 2,62 (sep,  $J = 7,8$  Hz, pcym), 2,17 (s, 3H, pcym), 0,87 (d,  $J = 7,8$  Hz, 6H, pcym) ppm.

**[Ru( $\eta^6$ -pcym)Cl $_2$ (4-ppa)] (2)**: 30,2 mg 4-pyridinpropionové kyseliny (0,2 mmol) se přidalo do roztoku 61,2 mg [Ru(p-cym)Cl $_2$ ] $_2$  (0,1 mmol) rozpuštěného v 10 ml dichlormethanu. Směs se nechala míchat po dobu 12 hodin a poté se roztok přefiltroval. Izolaci produktu z filtrátu se provedla podobně jako u přípravy komplexu **1**. Oranžový produkt se promyl diethyletherem a vysušil pod vakuem. Výťažnost reakce byla 72 %.

Anal. vypočteno pro komplex s 4-ppa C $_{18}$ H $_{23}$ NO $_2$ RuCl $_2$ : C, 47,27; H, 5,07; N, 3,06. Nalezeno: C, 46,83; H, 5,07; N, 2,89 %.  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  12,26 (bs, 1H, 4-ppa), 8,44 (d,  $J = 5,5$  Hz, 2H, 4-ppa), 7,26 (d,  $J = 5,5$  Hz, 2H, 4-ppa), 5,81 (d,  $J = 6,4$  Hz, 2H, pcym), 5,76 (d,  $J = 6,4$  Hz, 2H, pcym), 2,90 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 4-ppa), 2,57 (m, 3H, 4-ppa + pcym), 2,08 (s, 3H, pcym), 1,18 (d,  $J = 6,4$  Hz, 6H, pcym) ppm.

Anal. vypočteno pro komplex s 3-ppa C $_{18}$ H $_{23}$ NO $_2$ RuCl $_2$ : C, 47,27; H, 5,07; N, 3,06. Nalezeno: C, 47,43; H, 5,07; N, 2,73 %. ESI $^+$  MS (MeOH,  $m/z$ ): 421,9 (vyp. 422,1 pro [Ru(pcym)(3ppa)Cl] $^+$ ; 10 %), 386,1 (vyp. 386,1 pro {[Ru(pcym)(3ppa)]-H} $^+$ ; 100 %).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  12,23 (bs, 1H, 3-ppa), 8,45 (s, 1H, 3-ppa), 8,37 (d,  $J = 3,7$  Hz, 1H, 3-ppa), 7,66 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H, 3-ppa), 7,30 (dd,  $J = 7,8, 5,0$  Hz, 1H, 3-ppa), 5,81 (d,  $J = 6,4$  Hz, 2H, pcym), 5,77 (d,  $J = 6,4$  Hz, 2H, pcym), 2,82 (m, 2H, 3-ppa), 2,57 (m, 3H, 3-ppa + pcym), 2,08 (s, 3H, pcym), 1,19 (d,  $J = 7,3$  Hz, 6H, pcym) ppm. FTIR (ATR, cm $^{-1}$ ): 453w, 511w, 584w, 662w, 838m, 872m, 1059m, 1087m, 1157s, 1204m, 1270w, 1397m, 1424s, 1466m, 1496m, 1533w, 1615m, 1729vs, 2962s, 3061s.





Obr. 12: Strukturní vzorec  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  (**2**)

**$[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{phen})(4\text{-ppa}^-)]\text{PF}_6$  – metoda 1 (**3**):** 59,6 mg  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}(\text{phen})]\text{PF}_6$  (0,1 mmol) bylo rozpuštěno v 2 ml methanolu, přidalo se ekvimolární množství dusičnanu stříbrného (17,0 mg). Roztok se nechal míchat po dobu 1 hodiny a poté se vzniklá stříbrná sůl ( $\text{AgCl}$ ) odfiltrovala. K filtrátu se přidalo 75,6 mg 4-ppa (0,5 mmol) a směs reagovala v mikrovlnném syntetizátoru při 100 °C po dobu 5 minut. Roztok se po ochlazení přefiltroval a k filtrátu se přidal nadbytek hexafluorofosforečnanu draselného (55,3 mg; 0,3 mmol). Po filtraci byl produkt vyzolován obdobně jako v předchozích případech. Výtěžnost reakce byla 71 %.

Anal. vypočteno pro  $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_2\text{RuPF}_6$ : C, 50,71; H, 4,26; N, 5,91. Nalezeno: C, 59,51; H, 5,87; N, 8,15 %. ESI+ MS (MeOH,  $m/z$ ): 566,0 (vyp. 566,1 pro  $[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{phen})(4\text{ppa}^-)]^+$ ; 10 %), 432,1 (vyp. 432,1 pro  $\{[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{phen})]+\text{O}\}^+$ ; 100 %), 451,2 (vyp. 451,1 pro  $\{[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{phen})]-\text{H}\}^+$ ; 60 %).

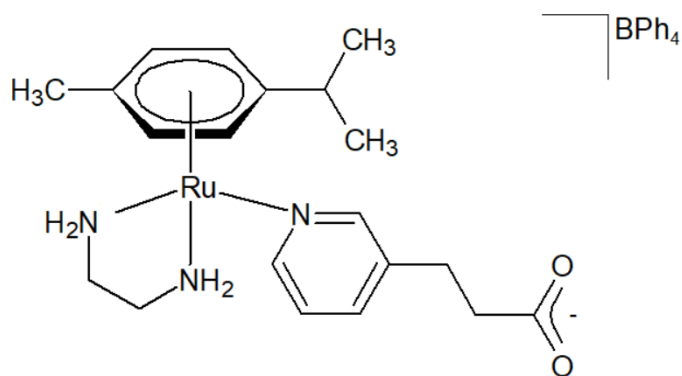
**$[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{phen})(4\text{-ppa}^-)]\text{PF}_6$  – metoda 2 (**3**):** 22,9 mg  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  (0,05 mmol) byl rozpuštěn v 12 ml dichlormethanu. K roztoku se přidalo 18,0 mg 1,10-fenantrolinu (0,1 mmol) a směs se nechala míchat po dobu 12 hodin. Po filtraci se k filtrátu přidal nadbytek hexafluorofosforečnanu amonného (40,8 mg; 0,25 mmol). Po 15 minutách se provedla filtrace a izolace oranžového komplexu **3**. Výtěžnost reakce byla 53 %.

Anal. vypočteno pro  $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_2\text{RuPF}_6$ : C, 50,71; H, 4,26; N, 5,91. Nalezeno: C, 49,61; H, 4,69; N, 5,10 %.

**$[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{en})(3\text{-ppa}^-)]\text{BPh}_4$  (**4**):** Komplex byl připraven analogickým postupem jako komplex **3** (metoda 2) za použití 45,7 mg  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2(3\text{-ppa})]$

(0,1 mmol), který byl rozpuštěn v 10 ml dichlormethanu. K roztoku se přidal menší nadbytek ethylen-1,2-diaminu (8  $\mu$ l, 0,15 mmol) a směs se nechala míchat po dobu 12 hodin. Po filtraci se k filtrátu přidal nadbytek tetrafenylboritanu sodného (171,2 mg; 0,5 mmol). Po 15 minutách míchání byl do zahuštěného roztoku přidán diethylether za vzniku žluté krystalické látky. Výtěžnost reakce byla 84 %.

Anal. vypočteno pro  $C_{44}H_{50}N_3O_2RuB$ : C, 69,10; H, 6,59; N, 5,49. Nalezeno: C, 68,68; H, 6,65; N, 5,11 %.  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,59 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H, 3-ppa), 7,56 (bs, BPh $_4$ ), 7,15 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H, 3-ppa), 7,13–6,95 (m, 3-ppa + BPh $_4$ ), 4,93 (m, 2H, pcym), 4,78 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H, pcym), 4,70 (d,  $J = 5,9$  Hz, 1H, pcym), 2,87 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H, 3-ppa), 2,62 (bs, 1H, en), 2,56 (m, 2H, 3-ppa), 2,24 (m, 1H, pcym), 1,76 (s, 3H, pcym), 1,63 (bs, 2H, en), 1,47 (bs, 2H, en), 1,34 (bs, 1H, en), 1,22 (bs, 2H, en), 1,12 (m, 6H, pcym) ppm. ESI+ MS (MeOH,  $m/z$ ): 445,8 (vyp. 446,1 pro  $[Ru(pcym)(en)(4ppa^-)]^+$ ; 5 %), 295,1 (vyp. 295,1 pro  $\{[Ru(pcym)(en)]-H\}^+$ ; 100 %). FTIR (ATR,  $cm^{-1}$ ): 470w, 544w, 611s, 708vs, 736vs, 807w, 846m, 867m, 1000m, 1032m, 1051s, 1114m, 1153m, 1278m, 1316m, 1377s, 1426s, 1451m, 1477s, 1500w, 1575vs, 1603s, 2879m, 2967s, 3054vs, 3123m, 3241 s, 3291s.



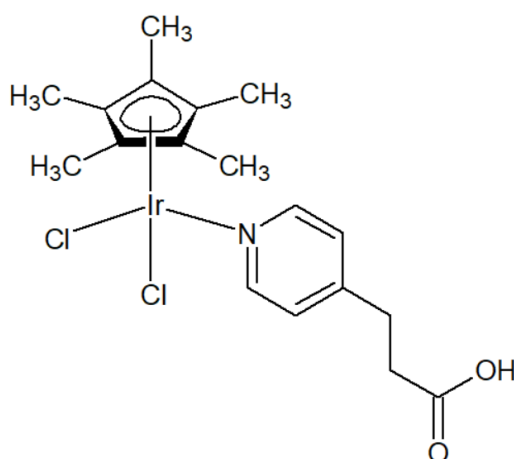
Obr. 13: Strukturální vzorec  $[Ru(\eta^6\text{-pcym})(en)(3\text{-ppa}^-)]BPh_4$  (4)

**$[Ir(\eta^5\text{-Cp}^*)Cl_2(4\text{-ppa})]$  (5):** Syntéza byla provedena, jak je popsáno pro komplex 2 za použití 79,7 mg  $[Ir(\eta^5\text{-Cp}^*)Cl_2]_2$  (0,1 mmol) v 12 ml dichlormethanu. Výsledný krystalický produkt je žluté barvy s výtěžností reakce 64 %.

Anal. vypočteno pro komplex s 4-ppa  $C_{18}H_{25}NO_2IrCl_2$ : C, 39,27; H, 4,58; N, 2,54. Nalezeno: C, 39,09; H, 4,51; N, 2,21 %. ESI+ MS (MeOH,  $m/z$ ): 478,1 (vyp. 478,1 pro  $\{[Ir(Cp^*)(4ppa)]-H\}^+$ ; 50 %).  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  12,29 (bs, 1H, 4-ppa), 8,45 (d,  $J =$

5,5 Hz, 2H, 4-ppa), 7,26 (d,  $J = 5,5$  Hz, 2H, 4-ppa), 2,82 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 4-ppa), 2,58 (t,  $J = 7,8$  Hz, 2H, 4-ppa), 1,62 (s, 15H, Cp\*) ppm. FTIR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 458w, 531w, 586w, 617w, 787w, 830w, 847m, 904w, 970w, 1032m, 1067m, 1153m, 1211m, 1257s, 1291m, 1343w, 1381m, 1431m, 1449m, 1494 w, 1615m, 1645s, 1718vs, 2920m, 3041m, 3090m, 3424m.

Anal. vypočteno pro komplex s 3-ppa  $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_2\text{IrCl}_2$ : C, 39,27; H, 4,58; N, 2,54. Nalezeno: C, 38,95; H, 4,13; N, 2,15 %. ESI+ MS (MeOH,  $m/z$ ): 478,1 (vyp. 478,1 pro  $\{[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(4\text{ppa})]\text{-H}\}^+$ ; 20 %).  $^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  12,26 (bs, 1H, 3-ppa), 8,45 (s, 1H, 3-ppa), 8,40 (bs, 1H, 3-ppa), 7,65 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H, 3-ppa), 7,30 (m, 1H, 3-ppa), 2,82 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H, 3-ppa), 2,57 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H, 3-ppa), 1,62 (s, 15H, Cp\*) ppm. FTIR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 451w, 535w, 575w, 612w, 657w, 708m, 792m, 792m, 822m, 906w, 1031m, 1062m, 1079m, 1108m, 1156s, 1176vs, 1194m, 1225w, 1270m, 1339w, 1389m, 1424s, 1476m, 1575w, 1602w, 1724vs, 2927m, 3125s.



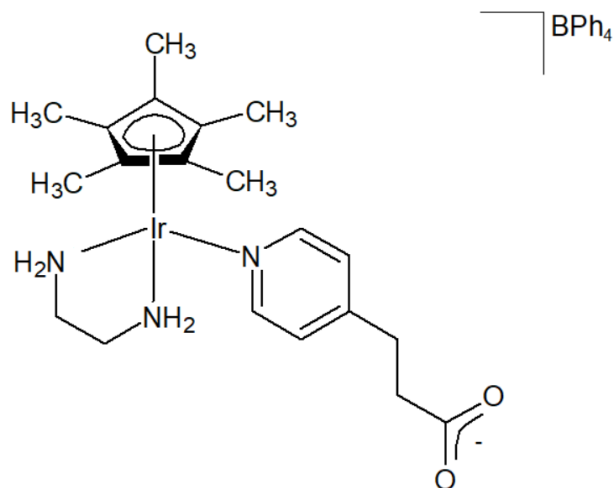
Obr. 14: Strukturní vzorec  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  (**5**)

**$[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{phen})(4\text{-ppa})]\text{PF}_6$  (**6**)**: Syntéza byla opět provedena analogicky, jak je tomu u komplexu **3** za použití 27,5 mg  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  (0,05 mmol). Připravený krystalický produkt je žluté barvy s výtěžností reakce 52 %.

Anal. vypočteno pro  $\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_2\text{IrPF}_6$ : C, 44,83; H, 4,01; N, 5,23. Nalezeno: C, 41,15; H, 2,40; N, 4,33 %.

**[Ir( $\eta^5$ -Cp\*)(en)(4-ppa<sup>-</sup>)]BPh<sub>4</sub> (7):** Syntéza proběhla podobně, jak je tomu u komplexu **4** za použití 27,5 mg [Ir( $\eta^5$ -Cp\*)Cl<sub>2</sub>(4-ppa)] (0,05 mmol) za vzniku žlutého krystalického produktu s výtěžností reakce 17 %.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  8,49 (d, *J* = 5,5 Hz, 2H, 4-ppa), 7,55 (bs, BPh<sub>4</sub>), 7,17 (d, *J* = 5,1 Hz, 2H, 4-ppa), 7,09–6,93 (m, BPh<sub>4</sub>), 3,56 (bs, 2H, en), 1,52 (bs, en), 1,39 (s, 15H, Cp\*), 1,03 (bs, 2H, en) ppm.



Obr. 15: Strukturální vzorec [Ir( $\eta^5$ -Cp\*)(en)(4-ppa<sup>-</sup>)]BPh<sub>4</sub> (7)

### 3.2.3. Syntéza maghemitových nanočástic

Maghemitové nanočástice byly připraveny rozpuštěním 2,2 g FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O (4,0 mmol) a 0,8 g FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O (2,0 mmol) v 50 ml destilované vody. Roztok byl míchán pod atmosférou dusíku do dosažení teploty 80 °C. Poté bylo k roztoku přidáno 5 ml 25 % NH<sub>4</sub>OH a vzniklá černá směs se míchala dalších 30 minut. Magnetitové nanočástice se promyly destilovanou vodou (3 x 10 ml) a nechaly se míchat s 25 ml 0,01 M HNO<sub>3</sub> při 90 °C po dobu 1 hodiny. Připravené maghemitové nanočástice se magneticky oddělily, opět třikrát promyly destilovanou vodou a byly uchovány pro další reakce pod isopropanolem v lednici.

FTIR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 558vs, 814w, 946w, 1124w, 1383w, 1623m, 2086w, 2169w, 2188w, 2973s, 3228s, 3697w, 3842m, 3907m.

### 3.2.4. Navázání komplexů na nanočástici

Navázání proběhlo rozpuštěním 0,05 mmol komplexů **2**, **4** a **5** v minimálním objemu dichlormethanu (6 ml). Za míchání se přidala suspenze nanočástic (0,13 ml  $\approx$  20 mg nanočástic). Dále se přidalo 6,24  $\mu$ l (0,05 mmol) triethylaminu a pro homogenizaci roztoku se využilo ultrazvuku. Vše se míchalo po dobu 48 hodin. Poté se část nanočástic izolovala magnetem, promyla diethyleterem a vysušila pro další analýzu. Zbytek byl uchován v lednici. Byly připraveny maghemitové nanočástice s povrchově navázanými Ru<sup>II</sup> nebo Ir<sup>III</sup> komplexy, které byly podle použitého komplexu označeny NP-2, NP-4 a NP-5.

NP-2: FTIR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 418s, 561vs, 805m, 1061s, 1107s, 1191s, 1409vs, 1477m, 1534s, 1589s, 1713m, 1976m, 2028m, 2081m, 2165s, 2320m, 2352m, 2962vs, 3047vs, 3308s, 3797m, 3898s.

NP-4: FTIR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 558vs, 1052m, 1387m, 1574m, 1986w, 2046w, 2166m, 2181w, 2325w, 2926m, 2964m, 3054m, 3238m, 3380m, 3740m.

NP-5: FTIR (ATR, cm<sup>-1</sup>): 545vs, 824w, 1027m, 1062m, 1152w, 1207w, 1379m, 1533w, 1612m, 1984w, 2033w, 2110w, 2165m, 2184m, 2245w, 2322w, 2908m, 3333m, 3668w, 3916w.

## 4. VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1. Syntéza

Jak je uvedeno výše v práci, hlavním cílem experimentální části bylo připravit polosendvičové komplexy ruthenia a iridia vhodné pro funkcionalizaci magnetických nanočástic na bázi maghemitu, které by byly perspektivní pro cílený transport neplatinových protinádorově aktivních sloučenin. Je známo, že na povrch maghemitových nanočástic se ochotně navazují karboxylové skupiny. Na druhou stranu bylo v literatuře popsáno několik polosendvičových komplexů ruthenia a iridia obecného složení  $[M(ar)(L^{\wedge}L)(py)]^{n+}$ , které obsahují monodentátně koordinovaný pyridin (py) nebo jeho derivát; M = Ru nebo Ir, ar = pěti- nebo šestičlenný aromatický kruh a  $L^{\wedge}L$  je bidentátně koordinovaný ligand. Proto byl jako vhodný ligand pro spojení protinádorově aktivních Ru a Ir komplexů s povrchem nanočástic zvolen derivát pyridinu, konkrétně dva izomery pyridinpropionové kyseliny (3-ppa a 4-ppa).

Syntéza takových sloučenin může probíhat více způsoby. Původní nápad syntézy byl proveden dle úvahy prvně navázat bidentátní ligand (byl vybrán 1,10-fenantrolin) na příslušný dimer ruthenia nebo iridia, za vzniku chloro komplexu. Poté bylo zamýšleno k meziproductu navázat linker (pyridinpropionovou kyselinu) pro následnou funkcionalizaci nanočástic. Reakce pro navázání ppa kyselin byly provedeny vícekrát, vždy s jiným molárním množstvím, přičemž nejlépe reakce proběhla v poměru 1:5 (chloro komplex vs. ppa kyselina). Nicméně analýzami bylo prokázáno, že se komplexy očekávaného složení  $[Ru(\eta^6\text{-pcym})(\text{phen})(\text{ppa}^-)]^+$  resp.  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{phen})(\text{ppa}^-)]^+$  nepodařilo syntetizovat. Z tohoto důvodu jsme zvolili opačnou metodu, kdy jsme vyzkoušeli navázat prvně linker (ppa kyselinu) a poté 1,10-fenantrolin. Touto metodou byly získány meziproducty  $[Ru(\eta^6\text{-pcym})Cl_2(\text{ppa})]$  (**2**) resp.  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)Cl_2(\text{ppa})]$  (**5**), které byly následně použity pro funkcionalizaci nanočástic. Ani tímto způsobem se však nepodařilo připravit výše zmíněné komplexy  $[Ru(\eta^6\text{-pcym})(\text{phen})(\text{ppa}^-)]^+$  resp.  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{phen})(\text{ppa}^-)]^+$ . Nicméně rozhodli jsme se tento způsob dále rozpracovat a vyzkoušet jiný bidentátní ligand – ethylen-1,2-diamin (en). Reakce en (přidáván v menším menší molárním nadbytku) s výše zmíněnými dichloro komplexy **2** a **5** poskytly komplexy  $[Ru(\eta^6\text{-pcym})(\text{en})(\text{ppa}^-)]^+$  (**4**) a  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{en})(\text{ppa}^-)]^+$  (**7**). Při syntézách se pro lepší izolovatelnost (zvýšení výtěžku) používaly soli  $KPF_6$ ,  $NH_4PF_6$  či  $NaBPh_4$ . Výsledné

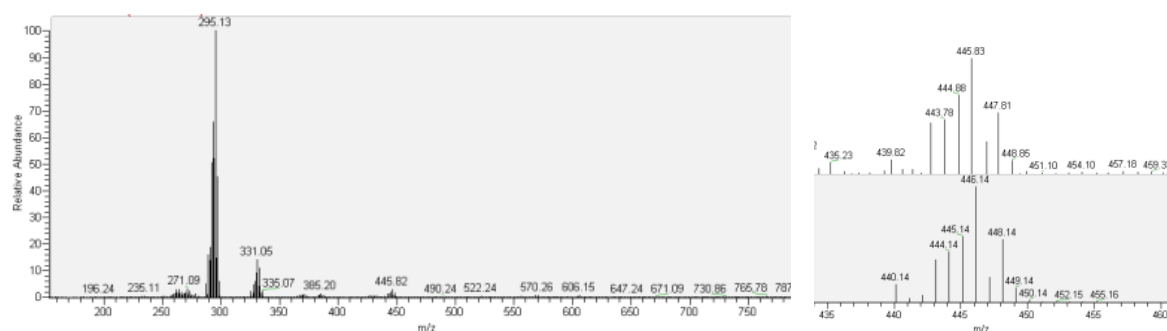
komplexy byly charakterizovány pomocí technik elementární analýza (EA), NMR spektroskopie, hmotnostní spektrometrie (MS) a infračervená spektroskopie (IČ).

Příprava maghemitových nanočástic probíhala v atmosféře dusíku, pro oxidaci magnetitových na maghemitové nanočástice se využilo 0,01 M kyseliny dusičné. Při funkcionalizaci nanočásticemi se zpočátku nepodařilo homogenizovat reakční směs, ale s přidáním nanočástic v isopropanolové suspenzi a využitím ultrazvuku se už nanočástice suspendovaly dokonale. Bylo také zjištěno, že při delší reakční době se komplex na nanočástice navázal ve větší míře, ale nebyly provedeny pokusy pro kvantifikaci tohoto rozdílu. Nanočástice byly studovány pouze infračervenou spektroskopií a skenovací elektronovou mikroskopií s energiově disperzní spektroskopií (SEM/EDS).

## 4.2. Charakterizace

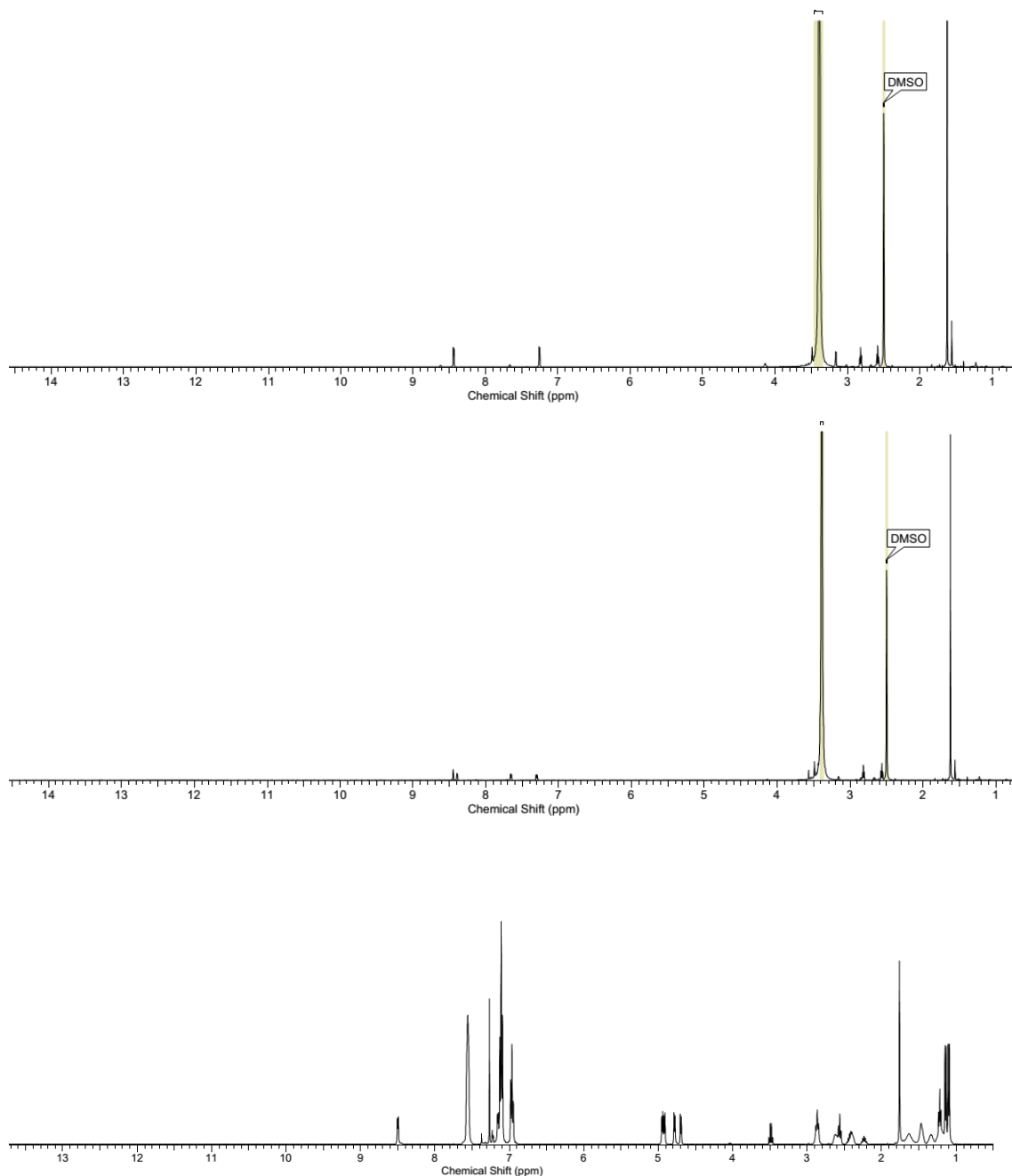
První metoda použitá pro charakterizaci byla EA. Rozdíl teoreticky vypočtených a experimentálně zjištěných hodnot se nelišil o více než 0,5 % u komplexů **2**, **4** a **5**, což vypovídá o správnosti provedených syntéz. U komplexů **3** a **6** se lišila o více než 0,5 %, na základě čehož lze předpokládat neúspěšné provedení syntézy.

Další metodou, která byla použita při charakterizaci produktů byla hmotnostní spektrometrie (MS), v rámci které je možno pozorovat v hmotnostních spektrech, že u dichloro komplexu **2** a **5** byly detekovány signály částic  $[\text{Ru}(\text{pcym})(3\text{-ppa})\text{Cl}]^+$ ,  $\{[\text{Ru}(\text{pcym})(3\text{-ppa})]\text{-H}\}^+$  resp.  $\{[\text{Ir}(\text{Cp}^*)(4\text{-ppa})]\text{-H}\}^+$  (obr. 16). V ESI+ hmotnostním spektru byly přítomny signály přiřaditelné částicím  $[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{en})(4\text{-ppa}^-)]^+$  (pouze 5% relativní intenzita) a fragmentu  $\{[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{en})]\text{-H}\}^+$ , který vzniká odštěpením ppa.



Obr. 16: ESI+ hmotnostní spektrum komplexu **4** rozpuštěného v methanolu (vlevo) a detail píku částice  $[\text{Ru}(\text{pcym})(\text{en})(4\text{-ppa}^-)]^+$  s experimentálním a teoretickým zjištěným izotopovým rozložením (vpravo)

Další metodou byla  $^1\text{H}$  NMR spektroskopie, kterou bylo nepřímě prokázáno složení připravených dichloro komplexů **2** a **5**, a komplexů **4** a **7** (obr. 17). U těchto látek byly detekovány signály všech H atomů přítomných v jejich struktuře, jako jsou charakteristické signály aromatických vodíkových atomů ppa kyselin detekovaných v oblasti 7,2–8,5 ppm. Pro komplexy s 4-ppa kyselinou byl v této oblasti detekován jeden pár dubletů, zatímco ve spektrech komplexů s 3-ppa ligandem byly přítomny čtyři signály.



Obr. 17:  $^1\text{H}$  NMR spektra komplexů **4** (nahore), **7** (uprostřed) a  $^{13}\text{C}$  NMR spektrum komplexu **4** (dole); měřeno v  $\text{DMSO-}d_6$



Deprotonizaci ppa ligandu v molekule komplexů **4** a **7** nasvědčuje to, že na rozdíl od spekter dichloro komplexů **2** a **5**, obsahujících elektroneutralní ppa ligandy (byl pro ně detekován široký signál při ca 12,2 ppm), nebyl v oblasti typické pro OH vodíky karboxylových skupin detekován žádný signál, a to ani v chloroformu.

#### 4.3. Funkcionalizované nanočástice

Ke studiu připravených nanočástic byly použity dvě techniky, a to IR spektroskopie a SEM/EDS analýza pro důkaz navázání použitých polosendvičových komplexů na povrch maghemitových nanočástic.

V IR spektrech byly pozorovány charakteristické pásy maghemitových nanočástic s minimem při ca 560  $\text{cm}^{-1}$  (obr. 18 a 19). Po funkcionalizaci byly detekovány i další pásy, jejichž poloha ve většině případů korelovala s těmi, které byly nalezeny v IR spektrech použitých komplexů. Toto nepřímo prokazuje navázání komplexů na povrch studovaných nanočástic.



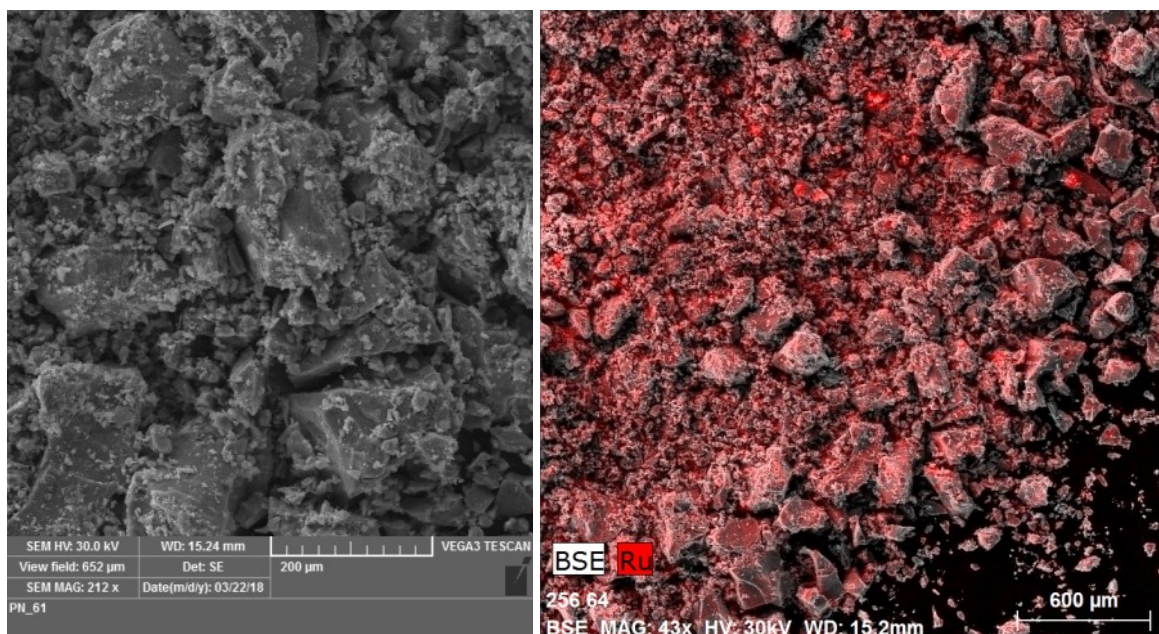
Obr. 18: Infračervená spektra maghemitových nanočástic (červeně), komplexu **4** (modře) a komplexu  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{en})(3\text{-ppa}^-)]\text{BPh}_4$  navázaného na povrch nanočástic (NP-4) (zeleně)



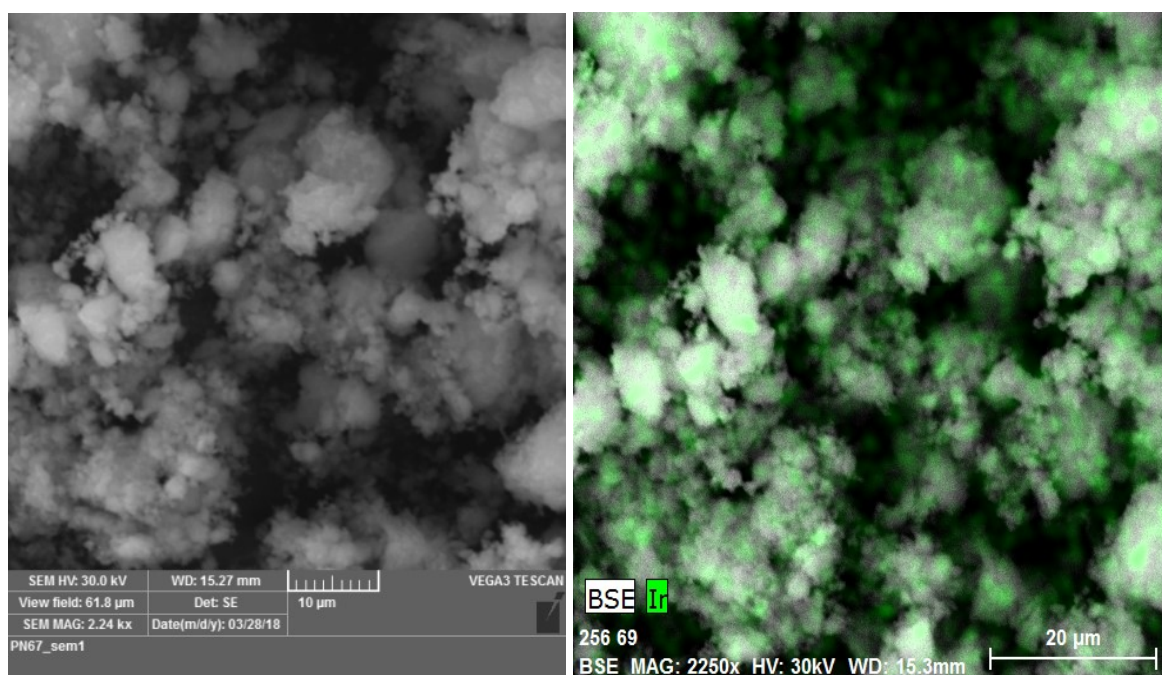
Obr. 19: Infračervená spektra maghemitových nanočástic (červeně), komplexu **5** (modře) a komplexu  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  navázaného na povrch nanočástic (NP-**5**) (růžově)

#### 4.3.1. Skenovací elektronová mikroskopie a energiově disperzní spektroskopie

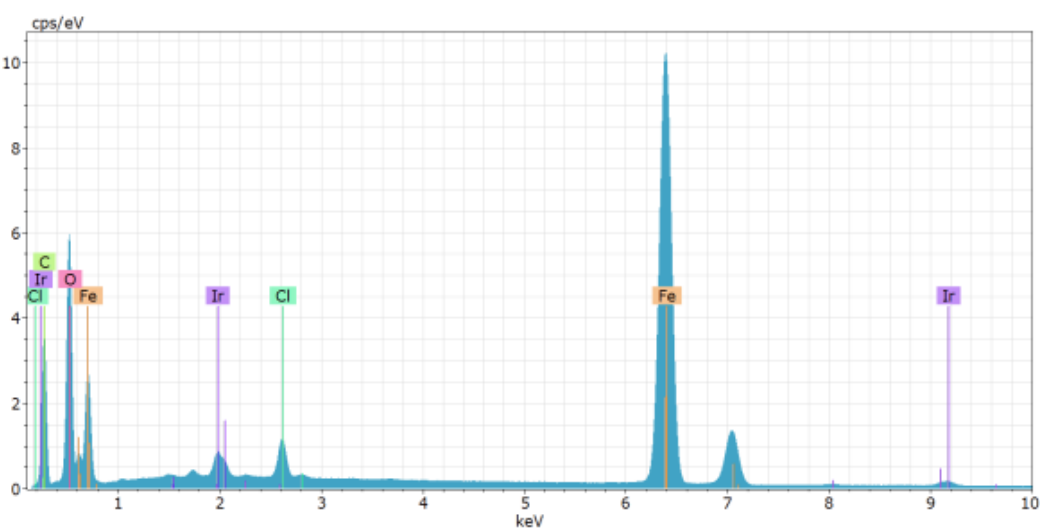
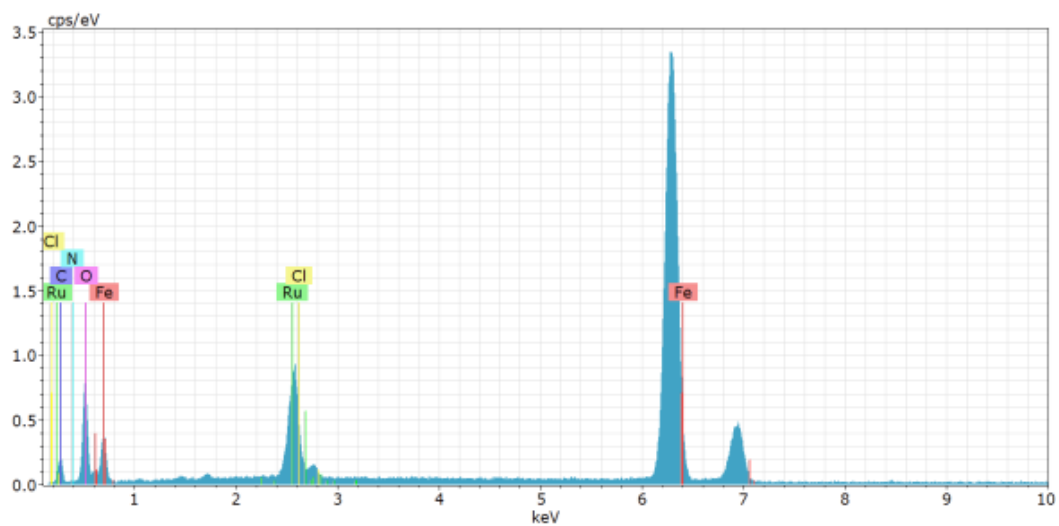
SEM mikroskopií byly poskytnuty základní informace o topografii povrchu připravených nanočásticových systémů pomocí signálů, které vznikají odražením sekundárních elektronů od vzorku. Přídavný detektor EDS poskytuje informace o prvkovém složení vzorku pomocí charakteristického rentgenového záření. Porovnání jednotlivých EDS spekter prokázalo, že při použití systému obsahující linker (pyridinpropionová kyselina) se komplex navázal na nanočástice (obr. 22 a 23). U komplexů  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pym})\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  (**2**) a  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  (**5**) byly detekovány charakteristické signály pro Ru (0,21 a 2,57 keV), tak i Ir (0,23, 1,98 a 9,18 keV). Tyto signály nebyly pozorovány u komplexů bez pyridinpropionové kyseliny (výchozí dimery). U konečného funkcionalizovaného komplexu NP-**4** (obr. 24) jsou opět viditelné signály ruthenia. Výsledky SEM/EDS spektroskopie tak podaly důkaz o navázání komplexů **2**, **4** a **5** na povrch magnetických nanočástic na bázi maghemitu. Z výsledků je také patrné rovnoměrné rozložení komplexů ve studovaných nanočásticových vzorcích (obr. 25).



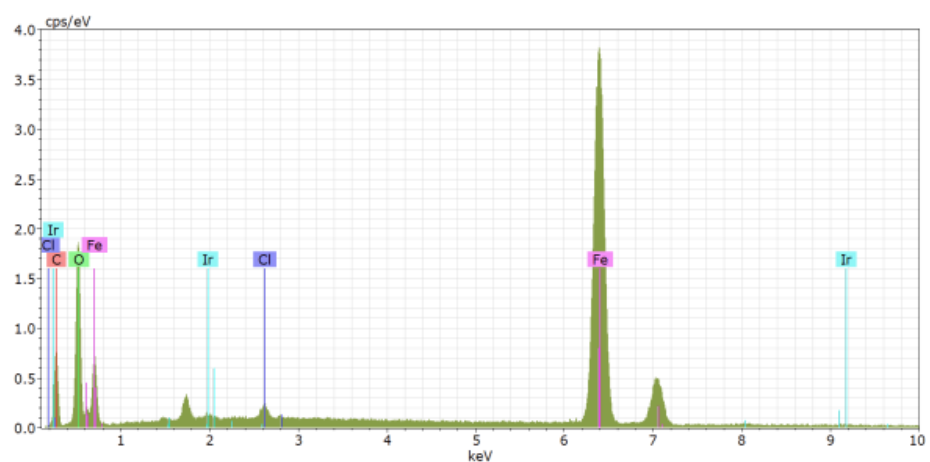
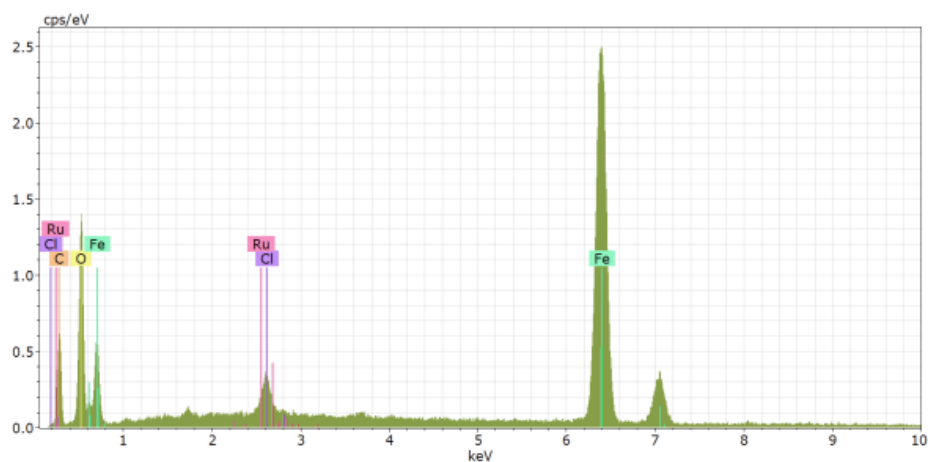
Obr. 20: SEM snímek (vlevo) a EDS mapování (vpravo) pro komplex  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  navázaný na povrchu nanočástic (NP-2)



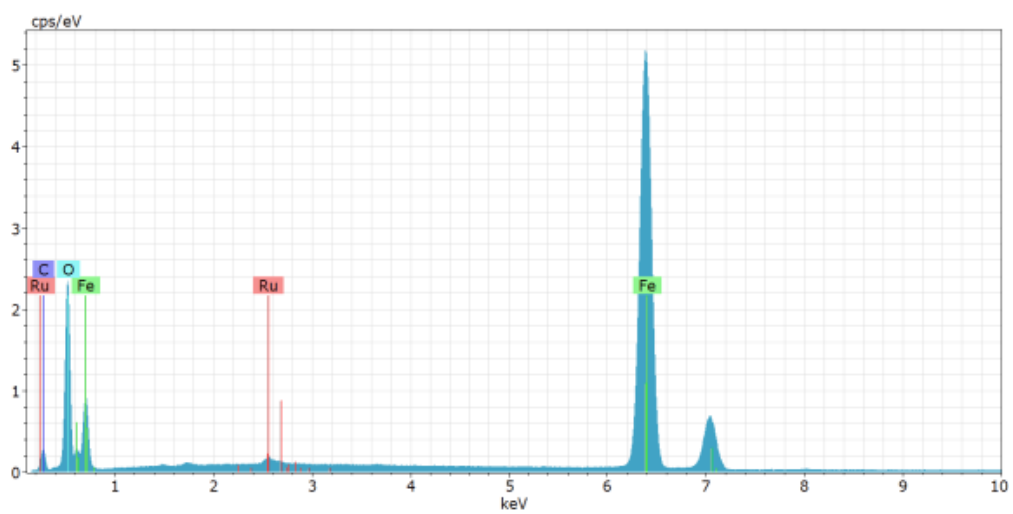
Obr. 21: SEM snímek (vlevo) a EDS mapování (vpravo) pro komplex  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  navázaný na povrchu nanočástic (NP-5)



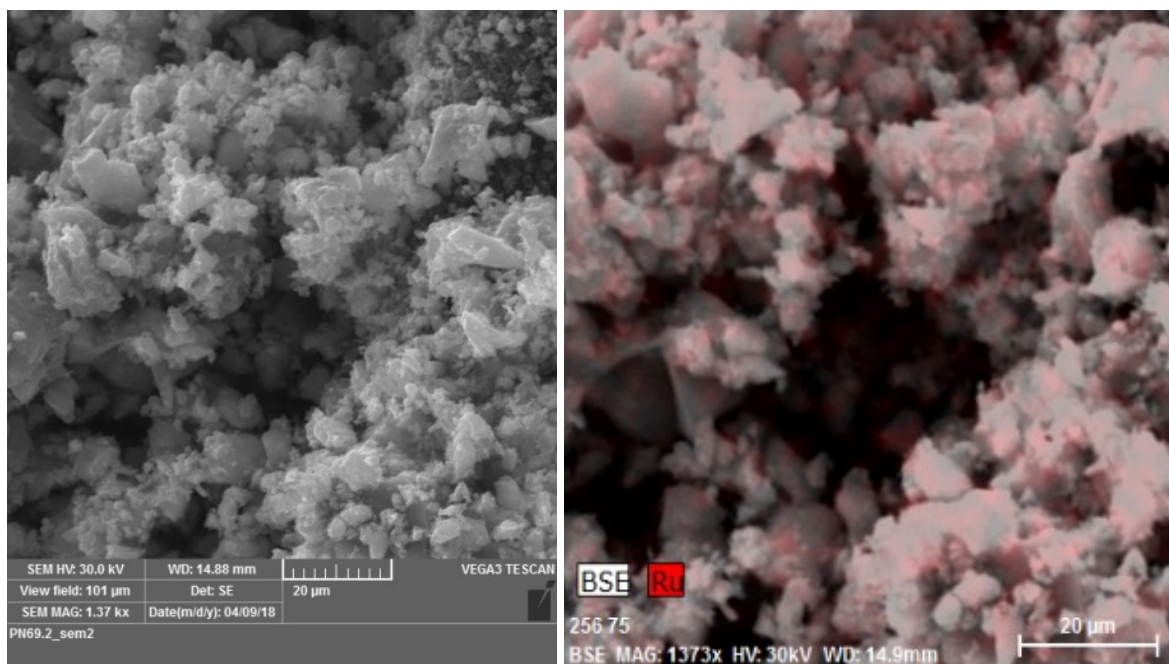
Obr. 22: EDS spektra pro komplex  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  navázaný na povrchu nanočástic (NP-2) (nahore) a pro komplex  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_2(4\text{-ppa})]$  navázaný na povrchu nanočástic (NP-5) (dole)



Obr. 23: EDS spektra komplexů bez ppa linkeru -  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2]_2$  (nahore) a  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_2]_2$  (dole)



Obr. 24: EDS spektrum pro komplex  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{en})(3\text{-ppa}^-)]\text{BPh}_4$  navázaný na povrchu nanočástic (NP-4)



Obr. 25: SEM snímek (vlevo) a BSE mapování (vpravo) pro komplex  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{en})(3\text{-ppa}^-)]\text{BPh}_4$  navázaný na povrchu nanočástic (NP-4)

## 5. ZÁVĚR

Cílem teoretické části této bakalářské práce bylo vypracování literární rešerše se zaměřením na funkcionalizaci nanočástic protinádorově aktivními komplexy přechodných kovů. Uvedená tematika by měla čtenáře seznámit s chemií ruthenia, iridia a pyridinpropionové kyseliny a zároveň je zavést do problematiky metaloterapeutických léčiv společně s podstatou využití magnetických nanočástic pro cílený transport těchto léčiv.

Experimentální část této bakalářské práce byla zaměřena na syntézu modelových polosendvičových komplexů ruthenia, popř. iridia, s cílem pokusit se je dále navázat na maghemitové nanočástice s využitím funkční karboxylové skupiny nacházející se na pyridinpropionové kyselině (ppa). Plánované komplexy o složení  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{phen})(\text{ppa}^-)]^+$  a  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{phen})(\text{ppa}^-)]^+$  s 1,10-fenantrolinem (phen) se nepodařilo syntetizovat způsobem vedoucím přes známé chloro komplexy  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})(\text{phen})\text{Cl}]^+$  a  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)(\text{phen})\text{Cl}]^+$ . Další použitá syntéza vedla přes dichloro komplexy  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-pcym})\text{Cl}_2(\text{ppa})]$  (**2**) a  $[\text{Ir}(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Cl}_2(\text{ppa})]$  (**5**), ze kterých byly následně připravovány komplexy s phen (neúspěšně) nebo ethylen-1,2-diaminem (en; úspěšně pro komplexy **4** resp. **7**). Nakonec byly připraveny magnetické systémy s  $\text{Ru}^{\text{II}}$  či  $\text{Ir}^{\text{III}}$  komplexy, které byly podle použitého komplexu označeny NP-2, NP-4 a NP-5. Bylo také prokázáno, že přítomnost ppa ligandu je pro navázání na povrch důležitá, protože sloučeniny bez ppa (např. výchozí dimery) se na nanočástice nenavázaly.

U produktů byla provedena charakterizace pomocí elementární analýzy, hmotnostní spektrometrie a nukleární magnetické rezonance. Pro důkaz o navázání použitých polosendvičových komplexů na povrch maghemitových nanočástic byly využity techniky infračervené spektroskopie, skenovací elektronová mikroskopie a energiově disperzní spektroskopie, které doplnily informace o funkcionalizaci, topografii a rovnoměrné distribuci komplexů v připravených nanosystémech.

## 6. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Kostova, I. "Ruthenium complexes as anticancer agents." *Curr. Med. Chem.* 13.9 (2006): 1085-1107.
- [2] Housecroft, C. E., Sharpe, A. G. "Inorganic chemistry." 4th ed. Harlow: *Pearson*. (2012): 793-808. ISBN 978-0-273-74275-3.
- [3] Kameníček, J. "Anorganická chemie." 4. vyd. Olomouc: *Univerzita Palackého v Olomouci*. (2009): 278-284. ISBN 978-80-244-2387-6.
- [4] Zeng, L., et al. "The development of anticancer ruthenium (II) complexes: from single molecule compounds to nanomaterials." *Chem. Soc. Rev.* 46.19 (2017): 5771-5804.
- [5] Alessio, E. "Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective." *Eur. J. Inorg. Chem.* 2017.12 (2017): 1549-1560.
- [6] Bytzek, A. K., et al. "Biodistribution of the novel anticancer drug sodium trans-[tetrachloridobis (1H-indazole) ruthenate (III)] KP-1339/IT139 in nude BALB/c mice and implications on its mode of action." *J. Inorg. Biochem.* 160 (2016): 250-255.
- [7] Wang, F., et al. "Kinetics of Aquation and Anation of Ruthenium (II) Arene Anticancer Complexes, Acidity and X-ray Structures of Aqua Adducts." *Chem.- Eur. J.* 9.23 (2003): 5810-5820.
- [8] Süß-Fink, G. "Arene ruthenium complexes as anticancer agents." *Dalton Trans.* 39.7 (2010): 1673-1688.
- [9] Morris, R. E., et al. "Inhibition of cancer cell growth by ruthenium (II) arene complexes." *J. Med. Chem.* 44.22 (2001): 3616-3621.
- [10] Romero-Canelón, I., et al. "Contrasting cellular uptake pathways for chlorido and iodido iminopyridine ruthenium arene anticancer complexes." *Metallomics* 4.12 (2012): 1271-1279.
- [11] Păunescu, E., et al. "Varying the metal to ethacrynic acid ratio in ruthenium (ii)/osmium (ii)-p-cymene conjugates." *J. Inorg. Biochem.* 175 (2017): 198-207.
- [12] Aird, R. E., et al. "In vitro and in vivo activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer." *Br. J. Cancer* 86.10 (2002): 1652.



- [13] Guichard, S. M., et al. "Anti-tumour activity in non-small cell lung cancer models and toxicity profiles for novel ruthenium (II) based organo-metallic compounds." *Biochem. Pharmacol.* 71.4 (2006): 408-415.
- [14] Meier-Menches, S. M., et al. "Structure–activity relationships for ruthenium and osmium anticancer agents–towards clinical development." *Chem. Soc. Rev.* 47 (2018): 909-928.
- [15] Bergamo, A., et al. "In vivo tumour and metastasis reduction and in vitro effects on invasion assays of the ruthenium RM175 and osmium AFAP51 organometallics in the mammary cancer model." *J. Inorg. Biochem.* 104.1 (2010): 79-86.
- [16] Chen, H., et al. "Organometallic ruthenium (II) diamine anticancer complexes: arene-nucleobase stacking and stereospecific hydrogen-bonding in guanine adducts." *J. Am. Chem. Soc.* 124.12 (2002): 3064-3082.
- [17] Chen, H., et al. "Highly selective binding of organometallic ruthenium ethylenediamine complexes to nucleic acids: novel recognition mechanisms." *J. Am. Chem. Soc.* 125.1 (2003): 173-186.
- [18] Wang, F., et al. "Reactions of a ruthenium (II) arene antitumor complex with cysteine and methionine." *Inorg. Chem.* 41.17 (2002): 4509-4523.
- [19] Wang, F., et al. "Competition between glutathione and guanine for a ruthenium (II) arene anticancer complex: detection of a sulfenato intermediate." *J. Am. Chem. Soc.* 127.50 (2005): 17734-17743.
- [20] Obara, S., et al. "Highly phosphorescent iridium complexes containing both tridentate bis (benzimidazolyl)-benzene or-pyridine and bidentate phenylpyridine: synthesis, photophysical properties, and theoretical study of Ir-bis (benzimidazolyl) benzene complex." *Inorg. Chem.* 45.22 (2006): 8907-8921.
- [21] Dolmans, D. E., et al. "Photodynamic therapy for cancer." *Nat. Rev. Cancer* 3.5 (2003): 380-387.
- [22] Celli, J. P., et al. "Imaging and photodynamic therapy: mechanisms, monitoring, and optimization." *Chem. Rev.* 110.5 (2010): 2795-2838.
- [23] Agostinis, P., et al. "Photodynamic therapy of cancer: an update." *CA-Cancer J. Clin.* 61.4 (2011): 250-281.
- [24] McKenzie, L. K., et al. "Metal Complexes for Two-Photon Photodynamic Therapy: A Cyclometallated Iridium Complex Induces Two-Photon Photosensitization of Cancer Cells under Near-IR Light." *Chem. - Eur. J.* 23.2 (2017): 234-238.

- [25] Jin, C., et al. "Cyclometalated iridium (III) complexes as AIE phosphorescent probes for real-time monitoring of mitophagy in living cells." *Sci. Rep.* 6 (2016): 22039.
- [26] Zheng, Y., et al. "Mixed-ligand iridium (III) complexes as photodynamic anticancer agents." *Dalton Trans.* 46.34 (2017): 11395-11407.
- [27] Sigma-Aldrich: Analytical, Biology, Chemistry & Materials Science products and services. Sigma-Aldrich [online]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com>
- [28] Zhang, X., et al. "Coordination polymers for energy transfer: preparations, properties, sensing applications, and perspectives." *Coord. Chem. Rev.* 284 (2015): 206-235.
- [29] Kreno, L. E., et al. "Metal–organic framework materials as chemical sensors." *Chem. Rev.* 112.2 (2011): 1105-1125.
- [30] Wang, Y. H., et al. "Syntheses and structural characterization of three new coordination polymers of  $[Ag(PPIA) \cdot H_2O]_n$ ,  $[Cu(PPIA)_2 \cdot 2H_2O]_n$  and  $[Zn(PPIA)_2(H_2O)_2]_n$ ; PPIA= 3-pyridinepropionic acid." *Polyhedron* 25.15 (2006): 2944-2952.
- [31] Lee, J. H., Im, S. Y., & Lee, S. W. "1D and 2D Zn–Ln coordination polymers based on compartment compounds:  $[ZnLn(L)(NO_3)_2(4\text{-ppa})(EtOH)]$  and  $[ZnLn(L)(NO_3)_2(4\text{-pca})(H_2O)]$  (Ln= Eu, Tb;  $H_2L = 1, 3\text{-bis}((3\text{-methoxysalicylidene})\text{ amino})\text{ propane}$ ; 4-Hppa= 4-pyridinepropionic acid; 4-Hpca= 4-pyridinecarboxylic acid)." *Polyhedron* 118 (2016): 125-132.
- [32] Zhou, Y., et al. "Topological and luminescent properties of two coordination polymers constructed from 3-pyridinepropionic acid." *Inorg. Chem. Commun.* 15 (2012): 140-145.
- [33] Ma, L., et al. "Heterodinuclear Pt (iv)–Ru (ii) anticancer prodrugs to combat both drug resistance and tumor metastasis." *Chem. Commun.* 52.71 (2016): 10735-10738.
- [34] Siegel, R. L., et al. "Cancer statistics, 2016." *Ca-Cancer J.Clin.* 66.1 (2016): 7-30.
- [35] Lammers, T., et al. "Drug targeting to tumors: principles, pitfalls and (pre-) clinical progress." *J. Controlled Release* 161.2 (2012): 175-187.
- [36] Bier, J. M., et al. "Thermal Transitions and Structural Relaxations in Protein-Based Thermoplastics." *Macromol. Mat. Eng.* 299.5 (2014): 524-539.
- [37] Braunecker, W. A., & Matyjaszewski, K. "Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives." *Prog. Polym. Sci.* 32.1 (2007): 93-146.
- [38] Moad, G., Rizzardo, E., & Thang, S. H. "Radical addition–fragmentation chemistry in polymer synthesis." *Polymer* 49.5 (2008): 1079-1131.

- [39] Ulbrich, K., et al. "Targeted drug delivery with polymers and magnetic nanoparticles: covalent and noncovalent approaches, release control, and clinical studies." *Chem. Rev.* 116.9 (2016): 5338-5431.
- [40] Lartigue, L., et al. "Biodegradation of iron oxide nanocubes: high-resolution in situ monitoring." *ACS Nano* 7.5 (2013): 3939-3952.
- [41] Arami, H., et al. "In vivo delivery, pharmacokinetics, biodistribution and toxicity of iron oxide nanoparticles." *Chem. Soc. Rev.* 44.23 (2015): 8576-8607.
- [42] [http://www.emg.tu-bs.de/forschung/material/maghemite\\_d.html](http://www.emg.tu-bs.de/forschung/material/maghemite_d.html) [Online]
- [43] Reedijk, B. J. "Metal-ligand exchange kinetics in platinum and ruthenium complexes." *Platinum Met. Rev.* 52.1 (2008): 2-11.
- [44] Tripisciano, C., et al. "Single-wall carbon nanotubes based anticancer drug delivery system." *Chem. Phys. Lett.* 478.4-6 (2009): 200-205.
- [45] Guven, A., et al. "Cisplatin@ US-tube carbon nanocapsules for enhanced chemotherapeutic delivery." *Biomaterials* 33.5 (2012): 1455-1461.
- [46] Li, J., et al. "Platinum (IV) prodrugs entrapped within multiwalled carbon nanotubes: selective release by chemical reduction and hydrophobicity reversal." *Chem. Sci.* 3.6 (2012): 2083-2087.
- [47] Brown, S. D., et al. "Gold nanoparticles for the improved anticancer drug delivery of the active component of oxaliplatin." *J. Am. Chem. Soc.* 132.13 (2010): 4678-4684.
- [48] Butler, J. S., & Sadler, P. J. "Targeted delivery of platinum-based anticancer complexes." *Curr. Opin. Chem. Biol.* 17.2 (2013): 175-188.
- [49] Xing, R., et al. "Superparamagnetic magnetite nanocrystal clusters as potential magnetic carriers for the delivery of platinum anticancer drugs." *J. Mater. Chem.* 21.30 (2011): 11142-11149.
- [50] Tannock, I. F., & Rotin, D. "Acid pH in tumors and its potential for therapeutic exploitation." *Cancer Res.* 49.16 (1989): 4373-4384.
- [51] Haag, R., & Kratz, F. "Polymer therapeutics: concepts and applications." *Angew. Chem. Int. Ed.* 45.8 (2006): 1198-1215.
- [52] Wang, J., et al. "A platinum anticancer theranostic agent with magnetic targeting potential derived from maghemite nanoparticles." *Chem. Sci.* 4.6 (2013): 2605-2612.

- [53] Dutta, R. K., & Sahu, S. "Development of oxaliplatin encapsulated in magnetic nanocarriers of pectin as a potential targeted drug delivery for cancer therapy." *Results Pharma. Sci.* 2 (2012): 38-45.
- [54] Schatzschneider, U. "Photoactivated biological activity of transition-metal complexes." *Eur. J. Inorg. Chem.* 2010.10 (2010): 1451-1467.
- [55] Glazer, E. C. "Light-Activated Metal Complexes that Covalently Modify DNA." *Isr. J. Chem.* 53.6-7 (2013): 391-400.
- [56] Barolet, D. "Light-emitting diodes (LEDs) in dermatology." *Semin. Cutan. Med. Surg.* 27.4. (2008): 227-238.
- [57] Chen, Z., et al. "Upconverting Nanoparticle Assisted Photochemistry Induced by Low Intensity Near Infrared Light: How Low Can We Go?." *Chem. Eur. J.* 21.25 (2015): 9165-9170.
- [58] Huang, P., et al. "Lanthanide-Doped LiLuF<sub>4</sub> Upconversion Nanoprobes for the Detection of Disease Biomarkers." *Angew. Chem. Int. Ed.* 53.5 (2014): 1252-1257.
- [59] Zhou, J., et al. "Upconversion luminescent materials: advances and applications." *Chem. Rev.* 115.1 (2014): 395-465.
- [60] Garcia, J. V., et al. "NIR-triggered release of caged nitric oxide using upconverting nanostructured materials." *Small* 8.24 (2012): 3800-3805.
- [61] Ruggiero, E., et al. "Near infrared photolysis of a Ru polypyridyl complex by upconverting nanoparticles." *Chem. Commun.* 50.14 (2014): 1715-1718.
- [62] Betanzos-Lara, S., et al. "Photoactivatable organometallic pyridyl ruthenium (II) arene complexes." *Organometallics* 31.9 (2012): 3466-3479.
- [63] Boyer, J. C., et al. "Surface modification of upconverting NaYF<sub>4</sub> nanoparticles with PEG– phosphate ligands for NIR (800 nm) biolabeling within the biological window." *Langmuir* 26.2 (2009): 1157-1164.
- [64] Ruggiero, E., et al. "Upconverting Nanoparticles Prompt Remote Near-Infrared Photoactivation of Ru (II)–Arene Complexes." *Chem. Eur. J.* 22.8 (2016): 2801-2811.