

## 9 Experimenteller Teil

### 9.1. Allgemeine Angaben

#### 9.1.1. Synthetischer und analytischer Teil

##### 9.1.1.1. *Verwendete Geräte, Chemikalien und Verbrauchsmaterialien*

Alle zur Synthese benötigten Lösungsmittel und Chemikalien wurden über die Firmen Aldrich, Degussa, Fluka, Lancaster, Merck und Sigma bezogen. Zusätzlich wurden für analytische Zwecke benötigt:

Celluloseacetatfilter 0.2 $\mu$ m und 0.45 $\mu$ m	Sartorius
MilliQ-Wasser (Widerstand < 18 $\Omega$ )	Millipore Filtersystems

#### **High Performance Liquid Chromatography (HPLC)**

Alle Untersuchungen erfolgten mit einer Anlage der Firma Kontron Instruments, bestehend aus:

Kontron-Hochdruck-Gradientensystem	BiotekKontron
HPLC-Pumpe 422	BiotekKontron
HPLC-Autosampler 465	BiotekKontron
HPLC-UV Detector 430A	BiotekKontron
Kartuschensäulensystem:	
-Vorsäule: Nucleosil 100-5 C <sub>18</sub> , 8 x 4 mm, endcapped	Macherey-Nagel
-Hauptsäule: Nucleosil 100-5 C <sub>18</sub> , 250 x 4 mm, endcapped	Macherey-Nagel
Thermostat K 20	Haake
Acetonitril, <i>HPLC-grade</i>	Merck
DAB Methanol, reinst, destilliert	Merck
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> p.A.	Merck
KI p.A.	Merck
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> p.A.	Merck
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> p.A.	Merck
Na-Heptansulfonsäure p.A.	Acros Organics

### Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC)

Die Untersuchungen mit der Mitteldruck-Chromatographie erfolgten mit einer Anlage der Firma Knauer, bestehend aus:

Gradientenformer	Knauer
Mitteldruck-Kolbenpumpe	Knauer
MPLC-Säule, RP-18	Knauer
UV-Spektrophotometer	Knauer

### Infrarotspektroskopie

Für die Aufnahme der IR-Spektren wurde ein ATI Mattson Genesis Serie FTIR Spektrometer verwendet.

Die Frequenzangaben erfolgen in  $\text{cm}^{-1}$ . Bei den Intensitätsangaben gelten folgende Abkürzungen: s: stark; m: mittelstark; w: schwach.

### Kernresonanzspektroskopie

Die  $^1\text{H}$ -NMR (400MHz)-Spektren der synthetisierten Verbindungen wurden an einem Avance/DPX 400 Gerät der Bruker Analytische Messtechnik GmbH aufgenommen. Als interner Standard fand Tetramethylsilan (TMS) Verwendung; das jeweils verwendete Lösungsmittel ist aufgeführt. Die chemischen Verschiebungen  $\delta$  sind in ppm angegeben, wobei folgende Abkürzungen gelten: s: Singulett, d: Dublett, t: Triplett, m: Multiplett, br: breiter Peak,  $^n\text{J}$  = Betrag der Kopplungskonstante über n Bindungen in Hz.

### Elementaranalysen

Die Elementaranalysen wurden an Perkin-Elmer Elementaranalysatoren 240 B und C von der analytischen Abteilung der Freien Universität Berlin durchgeführt.

Desweiteren wurden verwendet:

Analysenwaage BP211D	Sartorius
Digitales pH-Meter mit Glaselektrode	Orion
Ultraschallbad	Kontron

## 9.1.2. Pharmakologische Testung

### 9.1.2.1. Verwendete Geräte

Steril-Werkbank	Lamin Air HB2448 (Heraeus)
Stickstofftank GT 1 l	Air Liquide
Autoklav 2540 EL	Systec
CO <sub>2</sub> -Begasungsschrank SNW300TVBB	Nunc International
Lichtmikroskop Axiovert 25	Zeiss
Wasserbad SW-21C	Julabo Labortechnik
Zentrifuge Megafuge <sup>®</sup> 1.0 R	Heraeus
Schüttler LS10	Gerhardt
Fireboy <sup>®</sup> plus Sicherheitsbunsenbrenner	Integra
8-Kanalabsauger	VWR
pH-Meter 410 A	Orion
Neubauerzählkammer	Zeiss
Einkanal- und Mehrkanalpipetten	Eppendorf
Autoreader WinFlash	Jenapharm
Pipettierhilfe Pipettus Standard	Hirschmann
Sterilfiltrationsgerät „easy load“	Microgon
Zellkulturflaschen 75 cm <sup>2</sup>	Nunc

### Verbrauchsmaterialien

Einmalspritzen	Braun
Pasteurpipetten	VWR International
Pipettenspitzen	Sarstedt
96-Well-Mikrotiterplatten	TPP, Nunc
Zellkulturflaschen 75 cm <sup>3</sup> (steril)	TPP, Nunc
Celluloseacetatfilter 0.2µm	Sartorius
Zentrifugenröhrchen, konisch 15 ml, 50 ml	Sarstedt, TPP

**9.1.2.2. Chemikalien**

Ethanol 96%, Isopropanol 70%

PBS (Phosphat buffered saline): 8.0 g/l NaCl, 1.0 g/l Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O,	Roth,
0.15 g/l NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O, 0.2 g/l KCl, 0.2 g/l KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , mit Aqua bidest.	Merck
Glutardialdehyd: mit PBS auf 1% bzw. 3% (LNCaP/FGC) verdünnt	Merck
Trypsinreagenz (0.05% Trypsin,	Biochrom
0.02% EDTA in PBS)	Sigma
0.1N HCl p.A.	Merck
0.1N NaOH p.A.	Merck
Kristallviolett p.A. (N-Hexamethylpararosanilin·HCl)	Merck
0.02%ige Lösung in Aqua dest.	

**9.1.2.3. Zelllinien**

MCF-7: estrogenabhängige, humane Mammakarzinomzelllinie, ATCC

MDA-MB-231: hormonunabhängige, humane Mammakarzinomzelllinie, ATCC

LNCaP/FGC: androgenpositive, metastasierte, humane Prostatakarzinomzelllinie, ATCC

Die Fibroblasten und Keratinozyten wurden in der Arbeitsgruppe von Burkhard Kleuser aus juvenilem Vorhautgewebe isoliert und für die Untersuchungen im MTT-Test und für die IC<sub>50</sub>-Wert-Bestimmung freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

**9.1.2.4. Zellkulturmedien**

Für die Herstellung der Medium wird das für die jeweilige Zelllinie geeignete Pulvermedium mit Zusätzen weiterer spezifischer Reagenzien in Aqua bidest. gelöst. Nach Einstellung des pH-Wertes mit 0.1N NaOH oder 0.1N HCl auf pH 7.4-7.6 wird das Medium über einen 0.2µM Membranfilter sterilfiltriert und bei 2-8°C aufbewahrt. Vor Verwendung des Mediums wird die Flasche mit fetalem Kälberserum (FCS) versetzt, bei den Keratinozyten und Fibroblasten zusätzlich noch mit L-Glutamin und einer Penicillin/Streptomycin-Lösung.

**MCF-7-Zelllinie**

EMEM (Eagle's Minimum Essential Medium)/ Pulvermedium	Sigma
110 mg/l Natriumpyruvat (Brenztraubensäure)	Roth
2.2 g/l Natriumhydrogencarbonat	Alfa Aesar
50 mg/l Gentamycinsulfat	PAN Biotech

---

10% FCS	Biochrom
<b>MDA-MB-231-Zelllinie</b>	
McCoy's 5a Pulvermedium	Sigma
110 mg/l Natriumpyruvat	Roth
2.2 g/l Natriumhydrogencarbonat	Alfa Aesar
50 mg/l Gentamycinsulfat	PAN Biotech
5% FCS	Biochrom
<b>LNCaP/FGC-Zelllinie</b>	
RPMI-1640 Pulvermedium mit L-Glutamin	Sigma
2.0 g/l Natriumhydrogencarbonat	Alfa Aesar
50 mg/l Gentamycinsulfat	PAN Biotech
10% FCS	Biochrom
<b>Fibroblasten / Keratinozyten</b>	
Keratinozyte Growth Medium	Cellsystems
Keratinozyten Basal Medium	Cambrex Biosciences, Walkers Ville
DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)	Gibco
L-Glutamin	Sigma
Penicillin-/Streptomycinlösung: 10.000U/10.000µg/ml	Biochrom
FCS	Biochrom

## 9.2. Synthesevorschriften

### 9.2.1. Synthese der Platinverbindungen

#### *Vorstufen, Liganden und Kopplungspartner*

Für die Variationen der Abgangsgruppen wurde der 1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiaminligand verwendet, dessen Synthesevorschrift bei Krauser [46] zu finden ist.

Die enantiomerenreinen 1-Aryl-2-Alkylethandiamine wurden im Arbeitskreis von Prof. Gelbcke (Institut de Pharmacie, Université Libre de Bruxelles) synthetisiert und freundlicherweise für die Umsetzung zur Verfügung gestellt.

Die Herstellung der jeweiligen Dendrimere zur Kopplung mit Platinkomplexen erfolgte im Arbeitskreis von Prof. Dr. Schlüter (Institut für Chemie, Freie Universität Berlin).

#### 9.2.1.1. *Symmetrische und asymmetrische Platin(II)-Komplexe*

##### 9.2.1.1.1. *Komplexierung der symmetrischen und asymmetrischen, am C2 alkylierten Liganden mit Kaliumtetraiodoplatinat, $K_2PtI_4$*

Zur Herstellung von  $K_2PtI_4$  werden 0.25 mmol bzw. 1 mmol  $K_2PtCl_4$  und 2.5 mmol bzw. 10 mmol KI in 5 bzw. 10 ml Wasser gelöst und bis zur Dunkelfärbung gerührt.

Diese Lösung wird zu 0.25 mmol (1-Aryl-2-alkyl-ethandiamin) bzw. 1 mmol bei symmetrischen Platinverbindungen des jeweiligen Diaminliganden, gelöst in Wasser mit etwas Zusatz von 0.1N HCl, langsam zugetropft, wobei der pH-Wert der Lösung mit 0.1N NaOH auf 5.5-6.5 eingestellt wird. Ein konstanter pH-Wert zeigt das Ende der Komplexierung an. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss gerührt. Dann wird der pH mit 0.1N HCl auf pH 2 gebracht, eine weitere Stunde gerührt und der Niederschlag über eine Fritte abgesaugt, mit Wasser gewaschen und über  $P_2O_5$  im Vakuum getrocknet.

**[1*R*,2*S*-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]diiodoplatin(II) (RS-Ph/Met-I<sub>2</sub>)**

**[1*S*,2*R*-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]diiodoplatin(II) (SR-Ph/Met-I<sub>2</sub>)**

$C_9H_{14}N_2PtI_2$  (599.11)

gelbes Pulver

Ausbeute: 128.12 mg (0.214 mmol, 85.5%) (RS-Ph/Met-I<sub>2</sub>)

130.00 mg (0.217 mmol, 86.7%) (SR-Ph/Met-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 1.20 (d,  $^3J$ = 6.73 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.18-3.26 (m, 1H, CH-alkyl), 4.20-4.28 (m, 1H, Ar-CH), 5.08 (br, 1H, NH), 5.62 (br, 2H, NH), 6.00 (br, 1H, NH), 7.33-7.46 (m, 3H, Ar-H), 7.72-7.81 (m, 2H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 18.02 H 2.36 N 4.67

gef: C 18.14 H 2.38 N 4.63 (RS-Ph/Met-I<sub>2</sub>)

gef: C 18.02 H 2.50 N 4.60 (SR-Ph/Met-I<sub>2</sub>)

**[1*R*,2*R*-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]diiodoplatin(II) (RR-Ph/Met-I<sub>2</sub>)**

**[1*S*,2*S*-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]diiodoplatin(II) (SS-Ph/Met-I<sub>2</sub>)**

C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>PtI<sub>2</sub> (599.11)

gelbes Pulver

Ausbeute: 110.86 mg (0.185 mmol, 74.0%) (RR-Ph/Met-I<sub>2</sub>)

114.70 mg (0.191 mmol, 76.6%) (SS-Ph/Met-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 1.10 (d,  $^3J$ = 6.45 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.24-3.32 (m, 1H, CH-alkyl), 3.68-3.76 (m, 1H, Ar-CH), 5.10 (br, 1H, NH), 5.35 (br, 1H, NH), 5.78 (br, 1H, NH), 6.08 (br, 1H, NH), 7.37-7.48 (m, 3H, Ar-H), 7.53-7.62 (m, 2H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 18.02 H 2.36 N 4.67

gef: C 18.00 H 2.22 N 4.60 (RR-Ph/Met-I<sub>2</sub>)

gef: C 18.25 H 2.21 N 4.61 (SS-Ph/Met-I<sub>2</sub>)

**[1*R*,2*R*-1-Phenyl-2-tert-butylethylendiamin]diiodoplatin(II) (RR-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)**

**[1*S*,2*S*-1-Phenyl-2-tert-butylethylendiamin]diiodoplatin(II) (SS-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)**

C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>PtI<sub>2</sub> (640.94)

gelbes Pulver

Ausbeute: 152.33 mg (0.237 mmol, 94.8 %) (RR-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

143.01 mg (0.223 mmol, 89.2 %) (SS-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 0.81 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.17-3.24 (m, 1H, CH-alkyl), 3.89-3.94 (m, 1H, Ar-CH), 5.10 (br, 1H, NH), 5.32 (br, 2H, NH), 6.09 (br, 1H, NH), 7.36-7.46 (m, 3H, Ar-H), 7.66-7.73 (m, 2H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 22.48 H 3.14 N 4.37

gef: C 22.21 H 3.50 N 4.40 (RR-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

gef: C 22.13 H 3.13 N 4.37 (SS-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

**[1*R*,2*R*-1-(2-Hydroxyphenyl)-2-tert-butylethylethylendiamin]diiodoplatin(II)**  
**(RR-OH-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)**

**[1*S*,2*S*-1-(2-Hydroxyphenyl)-2-tert-butylethylethylendiamin]diiodoplatin(II)**  
**(SS-OH-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)**

C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>OPtI<sub>2</sub> (656.93)

gelbes Pulver

Ausbeute: 147.23 mg (0.224 mmol, 89.6 %) (RR-OH-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

160.02 mg (0.243 mmol, 97.2 %) (SS-OH-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>7</sub>]-DMF):** δ = 0.89 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.42-3.50 (m, 1H, CH-alkyl), 3.93-4.03 (m, 1H, Ar-CH), 4.50 (br, 1H, NH), 4.96 (br, 1H, NH), 5.12 (br, 1H, NH), 6.15 (br, 1H, NH), 6.88 (t, <sup>3</sup>J = 7.52 Hz, 1H, Ar-H), 6.96 (d, <sup>3</sup>J = 10.58 Hz, 1H, Ar-H), 7.22 (t, <sup>3</sup>J = 7.00 Hz, 1H, Ar-H), 7.40 (d, <sup>3</sup>J = 7.32 Hz, 1H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 21.92 H 3.04 N 4.26

gef: C 21.76 H 3.44 N 4.43 (RR-OH-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

gef: C 21.38 H 3.07 N 4.21 (SS-OH-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

**[1*R*,2*R*-1-(2-Methoxyphenyl)-2-tert-butylethylethylendiamin]diiodoplatin(II)**  
**(RR-MeO-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)**

**[1*S*,2*S*-1-(2-Methoxyphenyl)-2-tert-butylethylethylendiamin]diiodoplatin(II)**  
**(SS-MeO-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)**

C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>OPtI<sub>2</sub> (670.95)

gelbes Pulver

Ausbeute: 157.50 mg (0.234 mmol, 93.6 %) (RR-MeO-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

165.03 mg (0.245 mmol, 98.0 %) (SS-MeO-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>7</sub>]-DMF):** δ = 0.88 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.39-3.44 (m, 1H, CH-alkyl), 3.94 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>), 4.03-4.14 (m, 1H, Ar-CH), 4.76 (br, 1H, NH), 5.02 (br, 2H, NH), 6.19 (br, 1H, NH), 7.00 (t, <sup>3</sup>J = 7.45 Hz, 1H, Ar-H), 7.12 (d, <sup>3</sup>J = 8.61 Hz, 1H, Ar-H), 7.39 (t, <sup>3</sup>J = 7.25 Hz, 1H, Ar-H), 7.56 (d, <sup>3</sup>J = 7.59 Hz, 1H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 23.26 H 3.30 N 4.17

gef: C 23.50 H 3.30 N 4.18 (RR-MeO-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

gef: C 23.49 H 3.25 N 3.94 (SS-MeO-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

**[1*R*,2*S*-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethylendiamin]diiodoplatin(II) (RS-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)**

**[1*S*,2*R*-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethylendiamin]diiodoplatin(II) (SR-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)**

$C_{10}H_{15}N_2PtF_2$  (631.12)

gelbes Pulver

Ausbeute: 140.10 mg (0.222 mmol, 88.8%) (RS-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

145.03 mg (0.229 mmol, 91.9%) (SR-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ =0.95 (t, <sup>3</sup>J= 7.43 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.49-1.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.08-3.20 (m, 1H, CH-alkyl), 4.13 (m, 1H, Ar-CH), 4.80 (br, 1H, NH), 5.50 (br, 2H, NH), 6.00 (br, 1H, NH), 7.20-7.29 (m, 2H, H3'H5'), 8.12-8.24 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 19.03 H 2.40 N 4.44

gef: C 19.25 H 2.35 N 4.20 (RS-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

gef: C 19.12 H 2.21 N 4.58 (SR-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

**[1R,2R-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethyldiamin]diiodoplatin(II)** (RR-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

**[1S,2S-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethyldiamin]diiodoplatin(II)** (SS-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

$C_{10}H_{15}N_2PtF_2$  (631.12)

gelbes Pulver

Ausbeute: 151.61 mg (0.240 mmol, 96.1%) (RR-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

139.99 mg (0.222 mmol, 88.7%) (SS-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 0.85 (t, <sup>3</sup>J= 7.52 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.30-1.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.10-3.21 (m, 1H, CH-alkyl), 3.77-3.85 (m, 1H, Ar-H), 5.05 (br, 1H, NH), 5.38 (br, 1H, NH), 5.72 (br, 1H, NH), 6.00 (br, 1H, NH), 7.21-7.32 (m, 2H, H3'H5'), 7.67-7.79 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 19.03 H 2.40 N 4.44

gef: C 19.17 H 2.19 N 4.26 (RR-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

gef: C 19.15 H 2.36 N 4.16 (SS-4F-Ph/Et-I<sub>2</sub>)

**[1R,2S-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethyldiamin]diiodoplatin(II)**

**(RS-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)**

**[1S,2R-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethyldiamin]diiodoplatin(II)**

**(SR-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)**

$C_{11}H_{18}N_2PtF_2$  (645.92)

gelbes Pulver

Ausbeute: 150.00 mg (0.236 mmol, 94 %) (RS-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

149.23 mg (0.231 mmol, 92 %) (SR-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 0.95-1.04 (m, 6H, 2xCH<sub>3</sub>), 1.47 (m, 1H, CH), 3.10-3.13 (m, 1H, CH-alkyl), 4.10-4.15 (m, 1H, Ar-H), 5.11 (br, 1H, NH), 5.38 (br, 2H, NH), 6.04 (br, 1H, NH), 7.20-7.30 (m, 2H, H3'H5'), 8.38-8.49 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 20.46 H 2.79 N 4.34

gef: C 20.27 H 2.67 N 4.56 (RS-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

gef: C 20.13 H 2.66 N 4.39 (SR-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

**[1R,2R-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylethylendiamin]diiodoplatin(II)**  
**(RR-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)**

**[1S,2S-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylethylendiamin]diiodoplatin(II)**  
**(SS-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)**

C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>PtI<sub>2</sub> (645.92)

gelbes Pulver

Ausbeute: 150.00 mg (0.232 mmol, 93 %) (RR-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

147.33 mg (0.228 mmol, 91 %) (SS-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 0.85 (d, <sup>3</sup>J= 7.05 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.99 (d, <sup>3</sup>J= 7.12 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.56-1.61 (m, 1H, CH), 3.24 (d, <sup>3</sup>J= 4.24 Hz, 2H, CH-alkyl), 3.87-3.93 (m, 1H, Ar-H), 4.75 (br, 1H, NH), 5.30 (br, 1H, NH), 5.49 (br, 1H, NH), 6.00 (br, 1H, NH), 7.23-7.32 (m, 2H, H3'H5'), 7.69-7.78 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 20.46 H 2.79 N 4.34

gef: C 20.19 H 2.65 N 4.34 (RR-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

gef: C 20.31 H 2.63 N 4.47 (SS-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

**[1R,2R-1-(4-Fluorphenyl)-2-tert-butylethylethylendiamin]diiodoplatin(II)**  
**(RR-4F-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)**

**[1S,2S-1-(4-Fluorphenyl)-2-tert-butylethylethylendiamin]diiodoplatin(II)**  
**(SS-4F-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)**

C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>PtI<sub>2</sub> (658.93)

gelbes Pulver

Ausbeute: 157.01 mg (0.238 mmol, 95.2 %) (RR-4F-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

162.23 mg (0.246 mmol, 98.4 %) (SS-4F-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 0.83 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.17-3.22 (m, 1H, CH-alkyl), 3.86-3.92 (m, 1H, Ar-CH), 5.09 (br, 1H, NH), 5.36 (br, 2H, NH), 6.08 (br, 1H, NH), 7.20-7.29 (m, 2H, H3'H5'), 7.69-7.80 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 21.86 H 2.91 N 4.25

gef: C 21.58 H 2.89 N 4.23 (RR-4F-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

gef: C 21.79 H 2.95 N 4.29 (SS-4F-Ph/tBut-I<sub>2</sub>)

**[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]diiodoplatin (II) (m-4F-PtI<sub>2</sub>)**

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub>I<sub>2</sub>Pt (697.0)

gelbes Pulver

Ausbeute: 630 mg (0.904 mmol, 90.4 %)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>7</sub>]-DMF):** δ= 4.41-4.45 (m, 2H, Ar-CH), 5.53 (br, 2H, NH), 6.07 (br, 2H, NH), 7.06-7.13 (m, 4H, Ar-H), 7.62-7.67 (m, 4H, Ar-H)

**IR:** 3200 m, 3110 m (NH), 1610 s, 1510 s, 1240 s, 850 s

**CHN:** ber: C 24.12 H 2.07 N 4.02

gef: C 24.10 H 2.05 N 3.90

**9.2.1.1.2. Synthese von Aquasulfatokomplexen aus Diiodoplatin(II)-Komplexen**

Der jeweilige Diiodokomplexes (0.2 mmol vom 1-Aryl-2-alkyl-ethandiamin; 0.5 mmol von m-4F-PtI<sub>2</sub>) wird mit 0.194 mmol bzw. 0.485 mmol Silbersulfat in 20-40 ml Wasser suspendiert und drei Tage unter Lichtausschluß bei 50°C gerührt. Durch Zugabe von etwas 0.1N NaOH wird die Vollständigkeit der Reaktion überprüft (kein Niederschlag von Silberiodid). Die Suspension aus unlöslichem Silberiodid bzw. nicht umgesetztem Komplex wird über einen Membranfilter abgesaugt und das Filtrat gefriergetrocknet oder sofort weiter umgesetzt.

**Aqua[1R,2S-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]sulfatoplatin(II) (RS-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)**

**Aqua[1S,2R-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]sulfatoplatin(II) (SR-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)**

C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>PtSO<sub>5</sub> (457.03)

weißes Pulver

Ausbeute: 70.12 mg (0.153 mmol, 76.7%) (RS-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)

80.55 mg (0.176 mmol, 88.1%) (SR-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):** δ= 1.15 (d, <sup>3</sup>J= 6.74 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.21-3.36 (m, 1H, CH-alkyl), 4.20-4.25 (m, 1H, Ar-CH), 6.26 (br, 2H, NH), 6.41 (br, 1H, NH), 6.60 (br, 1H, NH), 7.38-7.45 (m, 3H, Ar-H), 7.60-7.68 (m, 2H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 23.63 H 3.09 N 6.13

gef: C 23.76 H 3.50 N 6.38 (RS-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)

gef: C 23.71 H 3.32 N 6.30 (SR-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)

**Aqua[*IR,2R*-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]sulfatoplatin(II) (RR-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)**

**Aqua[*IS,2S*-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]sulfatoplatin(II) (SS-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)**

C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>PtSO<sub>5</sub> (457.03)

weißes Pulver

Ausbeute: 62.08 mg (0.136 mmol, 67.8%) (RR-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)

58.40 mg (0.128 mmol, 63.9%) (SS-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):** δ= 0.90 (d, <sup>3</sup>J= 6.45 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.19-3.27 (m, 1H, CH-alkyl), 3.59-3.71 (m, 1H, Ar-CH), 5.71 (br, 1H, NH), 5.92 (br, 1H, NH), 6.13 (br, 1H, NH), 6.42 (br, 1H, NH), 6.96-7.08 (m, 3H, Ar-H), 7.32-7.47 (m, 2H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 23.63 H 3.09 N 6.13

gef: C 23.52 H 3.19 N 5.93 (RR-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)

gef: C 23.78 H 3.32 N 6.07 (SS-Ph/Met-SO<sub>4</sub>)

**Aqua[*IR,2R*-1-Phenyl-2-tert-butylethylethylendiamin]sulfatoplatin(II)**

**(RR-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)**

**Aqua[*IS,2S*-1-Phenyl-2-tert-butylethylethylendiamin]sulfatoplatin(II)**

**(SS-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)**

C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>PtSO<sub>5</sub> (501.09)

weißes Pulver

Ausbeute: 73.4 mg (0.146 mmol, 81.1 %) (RR-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

84.1 mg (0.167 mmol, 92.7 %) (SS-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):** δ= 0.69 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.03-3.09 (m, 1H, CH-alkyl), 3.82-3.90 (m, 1H, Ar-CH), 5.76 (br, 1H, NH), 5.94 (br, 1H, NH), 6.12 (br, 1H, NH), 6.54 (br, 1H, NH), 7.36-7.42 (m, 3H, Ar-H), 7.45-7.52 (m, 1H, Ar-H), 7.53-7.59 (m, 1H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 28.47 H 4.42 N 5.59

gef: C 28.22 H 4.30 N 5.60 (RR-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

gef: C 28.44 H 4.60 N 5.38 (SS-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

**Aqua[*IR,2R*-1-(2-Hydroxyphenyl)-2-tert-butylethylethylendiamin]sulfatoplatin(II)**

**(RR-OH-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)**

**Aqua[*IS,2S*-1-(2-Hydroxyphenyl)-2-tert-butylethylethylendiamin]sulfatoplatin(II)**

**(SS-OH-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)**C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>PtSO<sub>6</sub> (517.08)

weißes Pulver

Ausbeute: 69.0 mg (0.133 mmol, 73.8 %) (RR-OH-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)73.9 mg (0.143 mmol, 79.4 %) (SS-OH-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):** δ= 0.71 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.08-3.14 (m, 1H, CH-alkyl), 3.92-4.05 (m, 1H, Ar-CH), 5.38 (br, 1H, NH), 5.76 (br, 1H, NH), 6.06 (br, 1H, NH), 6.61 (br, 1H, NH), 6.82 (t, <sup>3</sup>J= 8.20 Hz, 1H, Ar-H), 6.87 (d, <sup>3</sup>J= 9.84 Hz, 1H, Ar-H), 7.19 (t, <sup>3</sup>J= 7.57 Hz, 1H, Ar-H), 7.37 (d, <sup>3</sup>J= 7.53 Hz, 1H, Ar-H), 10.19 (1H, OH)

**CHN:** ber: C 27.85 H 4.29 N 5.41gef: C 28.00 H 4.22 N 5.56 (RR-OH-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)gef: C 27.73 H 4.43 N 5.48 (SS-OH-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)**Aqua[*IR,2R*-1-(2-Methoxyphenyl)-2-tert-butylethylethyldiamin]sulfatoplatin(II)  
(RR-MeO-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)****Aqua[*IS,2S*-1-(2-Methoxyphenyl)-2-tert-butylethylethyldiamin]sulfatoplatin(II)****(SS-MeO-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)**C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>PtSO<sub>6</sub> (531.10)

weißes Pulver

Ausbeute: 80.5 mg (0.152 mmol, 84.4 %) (RR-MeO-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)85.3 mg (0.161 mmol, 89.4 %) (SS-MeO-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):** δ= 0.68 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.04-3.16 (m, 1H, CH-alkyl), 3.81 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>), 4.01-4.08 (m, 1H, Ar-H), 5.75 (br, 2H, NH), 6.04 (br, 1H, NH), 6.56 (br, 1H, NH), 6.94 (t, <sup>3</sup>J= 7.71 Hz, 1H, Ar-H), 7.10 (d, <sup>3</sup>J= 8.02 Hz, 1H, Ar-H), 7.32 (t, <sup>3</sup>J= 7.59 Hz, 1H, Ar-H), 7.48 (d, <sup>3</sup>J= 7.11 Hz, 1H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 29.38 H 4.55 N 5.27gef: C 29.23 H 4.60 N 5.31 (RR-MeO-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)gef: C 29.17 H 4.73 N 5.50 (SS-MeO-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)**Aqua[*IR,2S*-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethyldiamin]sulfatoplatin(II)  
(RS-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)****Aqua[*IS,2R*-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethyldiamin]sulfatoplatin(II)****(SR-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)**C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>PtFSO<sub>5</sub> (489.03)

weißes Pulver

Ausbeute: 62.76 mg (0.128 mmol, 64.2%) (RS-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)

75.75 mg (0.155 mmol, 77.4%) (SR-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):** δ= 0.85 (t, <sup>3</sup>J= 7.29 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.18-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.08-3.12 (m, 1H, CH-alkyl), 4.11-4.19 (m, 1H, Ar-CH), 6.05 (br, 1H, NH), 6.26 (br, 1H, NH), 6.52 (br, 2H, NH), 7.21-7.32 (m, 2H, H3'H5'), 7.51-7.60 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 24.54 H 3.09 N 5.72

gef: C 24.71 H 3.25 N 5.53 (RS-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)

gef: C 24.28 H 3.24 N 5.56 (SR-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)

**Aqua[*IR,2R*-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethylendiamin]sulfatoplatin(II)  
(RR-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)**

**Aqua[*IS,2S*-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethylendiamin]sulfatoplatin(II)  
(SS-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)**

C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>PtF<sub>5</sub>O<sub>5</sub> (489.03)

weißes Pulver

Ausbeute: 91.88 mg (0.188 mmol, 93.9%) (RR-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)

86.03 mg (0.176 mmol, 87.9%) (SS-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):** δ= 0.68 (t, <sup>3</sup>J= 7.40 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.20-1.35 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.05-3.10 (m, 1H, CH-alkyl), 3.72-3.78 (m, 1H, Ar-CH), 5.82 (br, 1H, NH), 6.17 (br, 1H, NH), 6.30 (br, 1H, NH), 6.42 (br, 1H, NH), 7.21-7.30 (m, 2H, H3'H5'), 7.45-7.58 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 24.54 H 3.09 N 5.72

gef: C 24.22 H 3.40 N 5.80 (RR-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)

gef: C 24.46 H 3.21 N 5.64 (SS-4F-Ph/Et-SO<sub>4</sub>)

**Aqua[*IR,2S*-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylendiamin]sulfatoplatin(II)  
(RS-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)**

**Aqua[*IS,2R*-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylendiamin]sulfatoplatin(II)  
(SR-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)**

C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>PtF<sub>5</sub>O<sub>5</sub> (503.05)

weißes Pulver

Ausbeute: 92.31 mg (0.183 mmol, 73 %) (RS-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)

90.00 mg (0.178 mmol, 71 %) (SR-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):**  $\delta$ = 0.87-0.93 (m, 6H, 2xCH<sub>3</sub>), 1.23-1.27 (m, 1H, CH), 2.88-2.92 (m, 1H, CH-alkyl), 4.58-4.62 (m, 1H, Ar-CH), 6.28 (br, 1H, NH), 6.43 (br, 2H, NH), 6.68 (br, 1H, NH), 7.32-7.42 (m, 2H, H3'H5'), 7.90-7.96 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 26.24 H 3.40 N 5.56

gef: C 25.97 H 3.69 N 5.34 (RS-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)

gef: C 26.28 H 3.50 N 5.45 (SR-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)

**Aqua[*IR,2R*-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylendiamin]sulfatoplatin(II)  
(RR-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)**

**Aqua[*IS,2S*-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylendiamin]sulfatoplatin(II)  
(SS-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)**

C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>PtFSO<sub>5</sub> (503.05)

weißes Pulver

Ausbeute: 80.00 mg (0.158 mmol, 63 %) (RR-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

84.21 mg (0.166 mmol, 67 %) (SS-4F-Ph/iProp-I<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):**  $\delta$ = 0.70 (d, <sup>3</sup>J= 3.45 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.82 (d, <sup>3</sup>J= 7.21 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.38-1.40 (m, 1H, CH-alkyl), 3.68-3.73 (m, 1H, Ar-CH), 5.82 (br, 1H, NH), 6.19 (br, 1H, NH), 6.30 (br, 1H, NH), 6.44 (br, 1H, NH), 7.22-7.29 (m, 2H, H3'H5'), 7.41-7.60 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 26.24 H 3.40 N 5.56

gef: C 26.47 H 3.68 N 5.46 (RR-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)

gef: C 26.01 H 3.49 N 5.20 (SS-4F-Ph/iProp-SO<sub>4</sub>)

**Aqua[*IR,2R*-1-(4-Fluorphenyl)-2-tert-butylethylendiamin]sulfatoplatin(II)  
(RR-4F-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)**

**Aqua[*IS,2S*-1-(4-Fluorphenyl)-2-tert-butylethylendiamin]sulfatoplatin(II)  
(SS-4F-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)**

C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>PtFSO<sub>5</sub> (519.45)

weißes Pulver

Ausbeute: 68.0 mg (0.131 mmol, 72.8 %) (RR-4F-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

60.2 mg (0.116 mmol, 64.4 %) (SS-4F-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):**  $\delta$ = 0.64 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.03-3.11 (m, 1H, CH-alkyl), 3.88-3.95 (m, 1H, Ar-CH), 5.72 (br, 1H, NH), 5.91 (br, 1H, NH), 6.49 (br, 1H, NH), 6.54 (br, 1H, NH), 7.15-7.30 (m, 2H, H3'H5'), 7.50-7.69 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 27.75 H 4.07 N 5.39

gef: C 27.36 H 4.11 N 5.29 (RR-4F-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

gef: C 27.60 H 4.27 N 5.17 (SS-4F-Ph/tBut-SO<sub>4</sub>)

### **Aqua[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]sulfatoplatin (II) (m-4F-PtSO<sub>4</sub>)**

C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub>O<sub>4</sub>PtS x H<sub>2</sub>O (557.3)

weißes Pulver

Ausbeute: 200.2 mg (0.360 mmol, 72 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):** δ= 4.37-4.42 (m, 2H, Ar-CH), 6.02 (br, 2H, NH), 6.62 (br, 2H, NH), 7.06-7.22 (m, 6H, Ar-H), 7.41-7.46 (m, 2H, Ar-H)

**IR:** 3160 m, 3080 m (NH), 1620s, 1520 s, 1240 s, 1130 m, 1040 m, 950 m, 850 m

**CHN:** ber: C 30.17 H 2.89 N 5.02

gef: C 30.08 H 2.93 N 5.06

#### **9.2.1.1.3. Synthese der Dichloroplatin(II)-Komplexe aus Aquasulfatoplatin(II)-Komplexen**

Der jeweilige unter 9.2.1.3 erhaltene Aquasulfatokomplex (0.15 mmol der asymmetrischen Platinverbindungen; 0.5-1.0 mmol von m-4F-PtSO<sub>4</sub>) wird in wenig Wasser gelöst und unter Rühren mit 2N HCl versetzt. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, der ausgefallene Niederschlag über einen Membranfilter abgesaugt, mit Wasser gewaschen und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet.

#### **[1R,2S-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]dichloroplatin(II) (RS-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)**

#### **[1S,2R-1-Phenyl-2-methylethylendiamin]dichloroplatin(II) (SR-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)**

C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>PtCl<sub>2</sub> (415.02)

gelbes Pulver

Ausbeute: 60.10 mg (0.145 mmol, 96.5%) (RS-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)

56.63 mg (0.136 mmol, 90.9%) (SR-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):** δ= 0.89 (d, <sup>3</sup>J= 6.75 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.74-2.89 (m, 1H, CH-alkyl), 5.22 (br, 2H, NH), 5.80 (br, 2H, NH), 7.24-7.51 (m, 5H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 25.97 H 3.39 N 6.73

gef: C 25.76 H 3.30 N 6.59 (RS-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)

gef: C 26.02 H 3.26 N 6.80 (SR-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)

**[*IR, 2R-1-Phenyl-2-methylethylendiamin*]dichloroplatin(II) (RR-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)****[*IS, 2S-1-Phenyl-2-methylethylendiamin*]dichloroplatin(II) (SS-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)**C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>PtCl<sub>2</sub> (415.02)

gelbes Pulver

Ausbeute: 57.00 mg (0.137 mmol, 91.6%) (RR-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)54.98 mg (0.132 mmol, 88.3%) (SS-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)**<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>7</sub>]-DMF):** δ = 0.91 (d, <sup>3</sup>J = 6.56 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.77-2.82 (m, 1H, CH-alkyl), 5.23 (br, 2H, NH), 5.88 (br, 2H, NH), 7.22-7.31 (m, 5H, Ar-H)**CHN:** ber: C 25.97 H 3.39 N 6.73gef: C 25.99 H 3.22 N 6.70 (RR-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)gef: C 26.00 H 3.45 N 6.88 (SS-Ph/Met-Cl<sub>2</sub>)**[*IR, 2R-1-Phenyl-2-tert-butylethylendiamin*]dichloroplatin(II) (RR-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)****[*IS, 2S-1-Phenyl-2-tert-butylethylendiamin*]dichloroplatin(II) (SS-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)**C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>PtCl<sub>2</sub> (458.28)

gelbes Pulver

Ausbeute: 62.3 mg (0.136 mmol, 90.7 %) (RR-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)58.4 mg (0.127 mmol, 84.7 %) (SS-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)**<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>7</sub>]-DMF):** δ = 0.84 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.20-3.26 (m, 1H, CH-alkyl), 3.83-3.92 (m, 1H, Ar-CH), 5.24 (br, 1H, NH), 5.42 (br, 1H, NH), 5.57 (br, 1H, NH), 6.21 (br, 1H, NH), 7.36-7.44 (m, 3H, Ar-H), 7.66-7.73 (m, 2H, Ar-H)**CHN:** ber: C 31.45 H 4.40 N 6.11gef: C 31.66 H 4.23 N 6.34 (RR-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)gef: C 31.59 H 4.56 N 6.07 (SS-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)**[*IR, 2R-1-(2-Hydroxyphenyl)-2-tert-butylethylendiamin*]dichloroplatin(II)****(RR-OH-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)****[*IS, 2S-1-(2-Hydroxyphenyl)-2-tert-butylethylendiamin*]dichloroplatin(II)****(SS-OH-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)**C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>OPtCl<sub>2</sub> (474.28)

gelbes Pulver

Ausbeute: 61.7 mg (0.130 mmol, 86.7 %) (RR-OH-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)55.8 mg (0.117 mmol, 78.0 %) (SS-OH-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)**<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>7</sub>]-DMF):** δ = 0.85 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.35-3.40 (m, 1H, CH-alkyl), 3.95-4.02 (m, 1H,

Ar-CH), 4.82 (br, 1H, NH), 5.18 (br, 1H, NH), 5.34 (br, 1H, NH), 6.20 (br, 1H, NH), 6.85 (t,  $^3J= 8.25$  Hz, 1H, Ar-H), 6.95 (d,  $^3J= 7.49$  Hz, 1H, Ar-H), 7.20 (t,  $^3J= 7.39$  Hz, 1H, Ar-H), 7.41 (d,  $^3J= 8.52$  Hz, 1H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 30.39 H 4.25 N 5.91

gef: C 30.65 H 4.47 N 6.17 (RR-OH-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

gef: C 30.52 H 4.45 N 5.79 (SS-OH-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

**[1*R*,2*R*-1-(2-Methoxyphenyl)-2-tert-butylethylendiamin]dichloroplatin(II)**  
**(RR-MeO-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)**

**[1*S*,2*S*-1-(2-Methoxyphenyl)-2-tert-butylethylendiamin]dichloroplatin(II)**  
**(SS-MeO-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)**

C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>OPtCl<sub>2</sub> (488.31)

gelbes Pulver

Ausbeute: 56.4 mg (0.115 mmol, 76.7 %) (RR-MeO-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

72.8 mg (0.149 mmol, 99.3 %) (SS-MeO-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>7</sub>]-DMF):**  $\delta= 0.80$  (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.35-3.42 (m, 1H, CH-alkyl), 3.93 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>), 4.00-4.10 (m, 1H, Ar-CH), 4.88 (br, 1H, NH), 5.15 (br, 1H, NH), 5.38 (br, 1H, NH), 6.28 (br, 1H, NH), 6.98 (t,  $^3J= 7.43$  Hz, 1H, Ar-H), 7.11 (d,  $^3J= 8.24$  Hz, 1H, Ar-H), 7.38 (t,  $^3J= 7.11$  Hz, 1H, Ar-H), 7.55 (d,  $^3J= 7.47$  Hz, 1H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 31.98 H 4.54 N 5.74

gef: C 31.93 H 4.60 N 5.81 (RR-MeO-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

gef: C 32.11 H 4.78 N 5.94 (SS-MeO-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

**[1*R*,2*S*-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethylendiamin]dichloroplatin(II) (RS-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)**

**[1*S*,2*R*-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethylendiamin]dichloroplatin(II) (SR-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)**

C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>FPtCl<sub>2</sub> (448.22)

gelbes Pulver

Ausbeute: 42.43 mg (0.094 mmol, 63.1%) (RS-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)

54.56 mg (0.121 mmol, 81.2%) (SR-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>7</sub>]-DMF):**  $\delta=0.95$  (t, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.42-1.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.45-3.50 (m, 1H, CH-alkyl), 4.20 (m, 1H, Ar-CH), 4.89 (br, 1H, NH), 5.72 (br, 2H, NH), 6.15 (br, 1H, NH), 7.21-7.33 (m, 2H, H3'H5'), 8.20-8.32 (m, 2H, H2'H6')

**CHN:** ber: C 26.80 H 3.37 N 6.25

gef: C 26.76 H 3.29 N 6.43 (RS-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)

gef: C 26.74 H 3.37 N 6.11 (SR-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)

**[1R,2R-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethylendiamin]dichloroplatin(II) (RR-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)**

**[1S,2S-1-(4-Fluorphenyl)-2-ethylethylendiamin]dichloroplatin(II) (SS-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)**

C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>FPtCl<sub>2</sub> (448.22)

gelbes Pulver

Ausbeute: 60.12 mg (0.134 mmol, 89.4%) (RR-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)

58.93 mg (0.131 mmol, 87.6%) (SS-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):** δ = 0.85 (t, <sup>3</sup>J = 7.50 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.25-1.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.18-3.29 (m, 1H, CH-alkyl), 4.12-4.17 (m, 1H, Ar-CH), 5.21 (br, 1H, NH), 5.50 (br, 1H, NH), 5.89 (br, 1H, NH), 6.08 (br, 1H, NH), 7.21-7.30 (m, 2H, H<sub>3'</sub>H<sub>5'</sub>), 7.70-7.80 (m, 2H, H<sub>2'</sub>H<sub>6'</sub>)

**CHN:** ber: C 26.80 H 3.37 N 6.25

gef: C 26.64 H 3.36 N 6.42 (RR-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)

gef: C 26.69 H 3.32 N 6.33 (SS-4F-Ph/Et-Cl<sub>2</sub>)

**[1R,2S-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylendiamin]dichloroplatin(II) (RS-4F-Ph/iProp-Cl<sub>2</sub>)**

**[1S,2R-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylendiamin]dichloroplatin(II) (SR-4F-Ph/iProp-Cl<sub>2</sub>)**

C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>FPtCl<sub>2</sub> (463.26)

gelbes Pulver

Ausbeute: 79.30 mg (0.171 mmol, 69 %) (RS-4F-Ph/iProp-Cl)

82.45 mg (0.178 mmol, 71 %) (SR-4F-Ph/iProp-Cl)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):** δ = 1.00-1.03 (m, 6H, CH<sub>3</sub>), 1.39-1.44 (m, 1H, CH), 2.97-3.01 (m, 1H, CH-alkyl), 4.14-4.19 (m, 1H, Ar-CH), 5.13 (br, 1H, NH), 5.44 (br, 1H, NH), 5.57 (br, 1H, NH), 6.10 (br, 1H, NH), 7.21-7.32 (m, 2H, H<sub>3'</sub>H<sub>5'</sub>), 8.50-8.61 (m, 2H, H<sub>2'</sub>H<sub>6'</sub>)

**CHN:** ber: C 28.52 H 3.92 N 6.05

gef: C 28.49 H 4.13 N 6.28 (RS-4F-Ph/iProp-Cl<sub>2</sub>)

gef: C 28.24 H 4.08 N 6.20 (SR-4F-Ph/iProp-Cl<sub>2</sub>)

**[1R,2R-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylendiamin]dichloroplatin(II) (RR-4F-Ph/iProp-Cl<sub>2</sub>)**

**[1S,2S-1-(4-Fluorphenyl)-2-isopropylethylendiamin]dichloroplatin(II) (SS-4F-Ph/iProp-Cl<sub>2</sub>)**

$C_{11}H_{18}N_2FPtCl_2$  (463.26)

Gelbes Pulver

Ausbeute: 92.30 mg (0.199 mmol, 80 %) (RR-4F-Ph/iProp-Cl)

88.76 mg (0.192 mmol, 77 %) (SS-4F-Ph/iProp-Cl)

$^1H$ -NMR ([D7]-DMF):  $\delta$  = 0.88 (d,  $^3J$  = 7.02 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 0.99 (d,  $^3J$  = 7.10 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.50 (m, 1H, CH), 3.29-3.32 (m, 1H, CH-alkyl), 3.89-3.94 (m, 1H, Ar-CH), 4.98 (br, 1H, NH), 5.49 (br, 1H, NH), 5.63 (br, 1H, NH), 6.10 (br, 1H, NH), 7.21-7.32 (m, 2H, H3'H5'), 7.70-7.81 (m, 2H H2'N6')

CHN: ber: C 28.52 H 3.92 N 6.05

gef: C 28.46 H 3.76 N 5.98 (RR-4F-Ph/iProp-Cl<sub>2</sub>)

gef: C 28.57 H 3.69 N 6.07 (SS-4F-Ph/iProp-Cl<sub>2</sub>)

**[1R,2R-1-(4-Fluorphenyl)-2-tert-butylethylendiamin]dichloroplatin(II)**  
**(RR-4F-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)**

**[1S,2S-1-(4-Fluorphenyl)-2-tert-butylethylendiamin]dichloroplatin(II)**  
**(SS-4F-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)**

$C_{12}H_{19}N_2FPtCl_2$  (475.06)

gelbes Pulver

Ausbeute: 70.4 mg (0.148 mmol, 98.7 %) (RR-4F-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

65.6 mg (0.138 mmol, 92.0 %) (SS-4F-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

$^1H$ -NMR ([D7]-DMF):  $\delta$  = 0.80 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3.18-3.27 (m, 1H, CH-alkyl), 3.86-3.92 (m, 1H, Ar-CH), 5.25 (br, 1H, NH), 5.42 (br, 1H, NH), 5.61 (br, 1H, NH), 6.20 (br, 1H, NH), 7.19-7.29 (m, 2H, H3'H5'), 7.70-7.81 (m, 2H, H2'H6')

CHN:ber: C 30.26 H 4.02 N 5.88

gef: C 30.49 H 4.21 N 5.90 (RR-4F-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

gef: C 30.24 H 4.05 N 5.91 (SS-4F-Ph/tBut-Cl<sub>2</sub>)

**[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]dichloroplatin (II) (m-4F-PtCl<sub>2</sub>)**

$C_{14}H_{14}N_2F_2Cl_2Pt$  (514.3)

gelbes Pulver

Ausbeute: 252.3 mg (0.491 mmol, 98.2 %)

$^1H$ -NMR ([D7]-DMF):  $\delta$  = 4.40-4.47 (m, 2H, Ar-CH), 5.71 (br, 2H, NH), 6.21 (br, 2H, NH), 7.06-7.13 (m, 4H, Ar-H), 7.62-7.67 (m, 4H, Ar-H)

IR: 3200 m, 3110 m (NH), 1610 s, 1510 s, 1240 s, 850 s

**CHN:** ber: C 32.70 H 2.74 N 5.45

gef: C 32.90 H 2.70 N 5.55

#### **9.2.1.1.4. Platin(II)-Komplexe mit chelatgebundenen Malonsäurederivaten als Abgangsgruppen**

Zur Herstellung der Komplexe mit chelatgebundenen Dicarbonsäuregruppen wurden zwei verschiedene Methoden angewandt:

**A)** Ist der entstehende Platin(II)-Malonsäurekomplex in Wasser schlechtlöslich, wird 0.5 mmol Aquasulfatokomplex mit der äquivalenten Menge Dicarbonsäure in ca. 10 ml Wasser gelöst und einen Tag bei Raumtemperatur unter Lichtausschluß gerührt. Dann wird der ausgefallene Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet.

**B)** Bei zu guter Wasserlöslichkeit wird der unter 9.2.1.3 hergestellte Aquasulfatokomplex nicht durch Gefriertrocknung isoliert, sondern zum erhaltenen Filtrat sofort die äquivalente Menge des entsprechenden Malonsäurederivates zugesetzt. Die Lösung wird über Nacht gerührt, der entstehende Niederschlag abfiltriert und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet.

**C)** Die Veresterung bzw. Acetylierung der Hydroxymalonsäure erfolgte durch Zugabe von Acetanhydrid oder Acetylchlorid zum Hydroxymalonsäure-Derivat mit DMF als Lösungsmittel. Nach 24 Std. Rühren unter Lichtausschluß wurde das Lösungsmittel abgetrennt entweder durch Abziehen an der Vakuumpumpe oder durch Abfiltrieren des gebildeten Niederschlages.

#### **[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]hydroxymalonatoplatin(II) (m-4F-OH-Mal)**

C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>F<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Pt x 0.5H<sub>2</sub>O (570.30) Methode A)

weißes Pulver

Ausbeute: 251.06 mg (0.440 mmol, 88.04%)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):** δ= 4.11 (br, 1H, CH-OH), 4.43-4.49 (m, 2H, Ar-CH), 5.08 (s, 0.5H, CH), 5.25 (s, 0.5H, CH)= Diastereomere, 6.05 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.72 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.09-7.18 (m, 4H, Ar-H), 7.59-7.66 (m, 4H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 35.80 H 2.98 N 4.91

gef: C 35.95 H 3.04 N 4.92

#### **[D,L-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]hydroxymalonatoplatin(II)**

**(D,L-4F-OH-Mal)**

$C_{17}H_{16}N_2F_2O_5Pt \times 0.5H_2O$  (570.30) Methode A)

weißes Pulver

Ausbeute: 233.20 mg (0.409 mmol, 81.8%)

$^1H$ -NMR ([D7]-DMF):  $\delta$ = 4.21-4.35 (m, 2H, Ar-CH), 5.06 (s, 1H, CH-OH)= rac, 6.03 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.71 (br, 1H, NH), 6.82 (br, 1H, NH), 7.17-7.26 (m, 4H, Ar-H), 7.51-7.86 (m, 4H, Ar-H)

CHN: ber: C 35.80 H 2.98 N 4.91

gef: C 35.66 H 2.80 N 4.90

**[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]acetylmalonatoplatin(II)****(m-4F-Mal-Ester)**

$C_{19}H_{18}N_2O_6F_2Pt$  (603.43) Methode C)

weißes Pulver

Ausbeute: 278.12 mg (0.461 mmol, 92.2%)

$^1H$ -NMR ([D7]-DMF):  $\delta$ = 1.98 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.04 (br, 1H, CH-OR), 4.45-4.50 (m, 2H, Ar-CH), 5.05 (s, 0.5H, CH), 5.24 (s, 0.5H, CH)=Diastereomere, 6.08 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.66 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.08-7.18 (m, 4H, Ar-H), 7.56-7.69 (m, 4H, Ar-H)

CHN: ber: C 37.82 H 3.01 N 4.64

gef: C 37.99 H 2.88 N 4.60

**[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]acetamidomalonatoplatin(II)****(m-4F-AM-Mal)**

$C_{19}H_{19}N_3O_5F_2Pt$  (602.45) Methode A)

gelblichweißes Pulver

Ausbeute: 263.12 mg (0.437 mmol, 87.3%)

$^1H$ -NMR (DMSO):  $\delta$ = 1.22 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.36 (s, 1H, CH-NH), 4.40-4.47 (m, 2H, Ar-CH), 6.33 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.84 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.12-7.17 (m, 4H, Ar-H), 7.18-7.27 (m, 2H, Ar-H), 7.30-7.36 (m, 2H, Ar-H)

CHN: ber: C 37.88 H 3.18 N 6.97

gef: C 37.50 H 3.08 N 7.05

**[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]methoxymalonatoplatin(II)**

**(m-4F-MeO-Mal)**

C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>F<sub>2</sub>Pt (575.42) Methode A)

weißes Pulver

Ausbeute: 244.66 mg (0.425 mmol, 85.0%)

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO): δ= 3.30 (s, 3H, O-CH<sub>3</sub>), 4.02-4.11 (m, 2H, Ar-CH), 5.05 (s, 1H, CH-OR), 5.92 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.58 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.06-7.14 (m, 4H, Ar-H), 7.39-7.46 (m, 4H, Ar-H)

CHN: ber: C 37.57 H 3.15 N 4.87

gef: C 37.62 H 3.05 N 4.93

**[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]propionsäurepropylamidomalonatoplatin(II)****m-4F-SM-Mal**

C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>F<sub>2</sub>Pt (658.16) Methode A)

weißes Pulver

Ausbeute: 312.40 mg (0.472 mmol, 94.9%)

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO): δ= 0.82 (t, <sup>3</sup>J= 7.39, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.38-1.46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.91-1.98 (m, 1H, CH), 1.99-2.06 (m, 1H, CH), 2.12-2.19 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.97-3.07 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3.63 (t, <sup>3</sup>J= 6.92, 1H, CH-R), 4.04-4.09 (m, 2H, Ar-CH), 5.92 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.44 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.03-7.12 (m, 4H, Ar-H), 7.39-7.48 (m, 4H, Ar-H)

CHN: ber: C 41.95 H 4.13 N 6.38

gef: C 41.77 H 4.05 N 6.52

**[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]aminomalonatoplatin(II)****(m-4F-NH<sub>2</sub>-Mal)**

C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>F<sub>2</sub>Pt (560.41) Methode B)

weißlich-gelbes Pulver

Ausbeute: 251.06 mg (0.448 mmol, 89.6%)

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO): δ= 3.98-4.06 (m, 2H, Ar-CH), 4.46 (s, 1H, CH-NH<sub>2</sub>), 5.50 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 6.17 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.03-7.17 (m, 4H, Ar-H), 7.28-7.32 (m, 4H, Ar-H)

CHN: ber: C 36.43 H 3.06 N 7.50

gef: C 36.98 H 2.97 N 7.31

## 9.2.2. Polynukleare Alkylaminplatin(II)-Komplexe

### 9.2.2.1. Kationische Alkylaminplatin(II)-Addukte mit DMSO als Abgangsgruppe

0.1 mmol Aquasulfatokomplex werden in 2-3 ml Dimethylsulfoxid gelöst und mit dem jeweiligen Amin (Monoamin 0.1 mmol, Diamin 0.05 mmol und DAB(PA)<sub>4</sub> 0.025 mmol), gelöst in wenig Methanol, zusammengegeben. Die Lösung wird 24-36h bei Raumtemperatur gerührt. Der ausgefallene Komplex wird abfiltriert und unter Vakuum bei 50°C getrocknet. Die Überführung in die jeweiligen [Alkylamin]-chloroplatin(II)-Komplexe fand im Wässrigen durch Zugabe von 1-2 ml 0.1N HCl zum korrespondierenden DMSO-Komplex statt. Der Komplex wurde einige Stunden bei Raumtemperatur gerührt und nach dem Abfiltrieren bei 50°C im Vakuum getrocknet.

#### [Meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]sulfinylbis[methan]-S][propylamin]-platin(II)

##### m-4F-Pt-PA-DMSO

C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>F<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Pt (676.12)

weißes Pulver

Ausbeute: 37.94 mg (0.056 mmol, 56.11%)

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 0.96 (t, <sup>3</sup>J = 7.43 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.65-1.72 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.90 (t, <sup>3</sup>J = 7.37 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 4.70 (m, 2H, CH-benzyl), 7.02-7.15 (m, 4H, Ar-H), 7.16-7.23 (m, 2H, Ar-H), 7.25-7.32 (m, 2H, Ar-H)

CHN: ber: C 33.73 H 4.32 N 6.21

gef: C 33.59 H 4.33 N 6.00

#### [Meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]sulfinylbis[methan]-S][butylamin]-platin(II)

##### m-4F-Pt-BA-DMSO

C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>F<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Pt (690.13)

weißes Pulver

Ausbeute: 33.36 mg (0.048 mmol, 48.34 %)

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ = 0.93 (t, <sup>3</sup>J = 7.33 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.36-1.46 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.62-1.76 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.96 (t, <sup>3</sup>J = 6.99 Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 3.68 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 4.62 (m, 2H, CH-benzyl), 7.04-7.14 (m, 4H, Ar-H), 7.17-7.23 (m, 2H, Ar-H), 7.24-7.31 (m, 2H, Ar-H)

CHN: ber: C 34.78 H 4.52 N 6.08

gef: C 35.13 H 4.77 N 6.13

**[Meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]sulfinylbis[methan]-S][hexylamin]-platin(II)  
m-4F-Pt-HA-DMSO**C<sub>22</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>F<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>Pt (718.16)

weißes Pulver

Ausbeute: 44.24 mg (0.062 mmol, 61.61 %)

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ= 0.89 (t, <sup>3</sup>J=6.75Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.29-1.40 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.68-1.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.95 (t, <sup>3</sup>J=7.11Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 3.70-3.79 (s, 6H, CH<sub>3</sub>), 4.60 (m, 2H, CH-benzyl), 7.04-7.13 (m, 4H, Ar-H), 7.15-7.22 (m, 2H, Ar-H), 7.23-7.30 (m, 2H, Ar-H)

CHN: ber: C 36.76 H 4.91 N 5.85

gef: C 36.49 H 5.03 N 6.01

**Di(meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin)di(sulfinylbis[methan]-S)(μ-1,6-diamino-  
hexan-N:N')diplatin(II)disulfat****m-4F-Pt-DAH-DMSO**C<sub>38</sub>H<sub>56</sub>N<sub>6</sub>F<sub>4</sub>S<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Pt<sub>2</sub> (1350.22)

weißes Pulver

Ausbeute: 33.04 mg (0.021 mmol, 42.73 %)

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ= 1.40-1.48 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.68-1.79 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 2.98 (t, <sup>3</sup>J=6.67Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 3.71 (s, 12H, CH<sub>3</sub>), 4.58-4.69 (m, 4H, CH-benzyl), 7.05-7.13 (m, 8H, Ar-H), 7.18-7.23 (m, 4H, Ar-H), 7.25-7.31 (m, 4H, Ar-H)

CHN: ber: C 33.78 H 4.18 N 6.22

gef: C 33.55 H 4.31 N 6.45

**Di(meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin)di(sulfinylbis[methan]-S)(μ-1,9-diamino-  
nonan-N:N')diplatin(II)disulfat****m-4F-Pt-DAN-DMSO**C<sub>41</sub>H<sub>62</sub>N<sub>6</sub>F<sub>4</sub>S<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Pt<sub>2</sub> (1392.26)

weißes Pulver

Ausbeute: 56.85 mg (0.036 mmol, 71.57 %)

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O): δ= 1.30-1.42 (m, 10H, CH<sub>2</sub>), 1.63-1.77 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 2.98 (t, <sup>3</sup>J=7.30Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 3.72 (s, 12H, CH<sub>3</sub>), 4.62-4.70 (m, 4H, CH-benzyl), 7.05-7.13 (m, 8H, Ar-H), 7.18-7.23 (m, 4H, Ar-H), 7.25-7.31 (m, 4H, Ar-H)

CHN: ber: C 35.34 H 4.48 N 6.03

gef: C 35.46 H 4.51 N 6.29

**Di(meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin)di(sulfinylbis[methan]-S)( $\mu$ -1,12-diaminododecan-N:N')diplatin(II)disulfat****m-4F-Pt-DAD-DMSO** $C_{44}H_{68}N_6F_4S_4O_{10}Pt_2$  (1434.31)

weißes Pulver

Ausbeute: 50.85 mg (0.031 mmol, 62.37 %)

 **$^1H$ -NMR ( $D_2O$ ):**  $\delta$ = 1.33-1.46 (m, 12H,  $CH_2$ ), 1.61-1.70 (m, 8H,  $CH_2$ ), 2.99 (t,  $^3J=7.54$ Hz, 4H, N- $CH_2$ ), 3.48 (s, 12H,  $CH_3$ ), 4.55-4.67 (m, 4H, CH-benzyl), 6.99-7.09 (m, 8H, Ar-H), 7.17-7.28 (m, 4H, Ar-H), 7.32-7.43 (m, 4H, Ar-H)**CHN:** ber: C 36.82 H 4.77 N 5.85

gef: C 36.62 H 4.81 N 5.62

**Tetra(meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin)di(sulfinylbis[methan]-S)(N,N,N',N'-tetrakis-(3-aminopropyl)butan-1,4-diamin)tetraplatin(II)tetrasulfat****(m-4F-Pt-DAB(PA)<sub>4</sub>-DMSO** $C_{76}H_{112}N_{14}F_8S_8O_{20}Pt_4$  (2728.44)

weißes Pulver

Ausbeute: 52.44 mg (0.016 mmol, 63.26 %)

 **$^1H$ -NMR ( $D_2O$ ):**  $\delta$ = 1.51-1.68 (m, 4H,  $CH_2$ ), 2.20 (t,  $^3J=2.48$ Hz, 12H, N- $CH_2$ ), 2.72-2.88 (m, 8H,  $CH_2$ ), 2.92-3.05 (t,  $^3J=8.40$ Hz, 8H, N- $CH_2$ ), 3.65 (s, 24H,  $CH_3$ ), 4.56-4.63 (m, 8H, CH-benzyl), 6.91-7.08 (m, 16H, Ar-H), 7.09-7.20 (m, 8H, Ar-H), 7.21-7.35 (m, 8H, Ar-H)**CHN:** ber: C 33.43 H 4.13 N 7.18

gef: C 33.50 H 4.21 N 7.16

**9.2.2.2. Kationische Alkylaminplatin(II)-Addukte mit Chlorid als Abgangsgruppe**

Das jeweilige Dimethylsulfoxid-Amin-Addukt wird in wenig Wasser gelöst und in den jeweiligen Chlorokomplex durch Umsetzung mit 2N HCl überführt. Das weißlichgelbe Präzipitat wird abfiltriert und im Vakuum bei 50°C getrocknet.

**Chloro[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin][propylamin]platin(II)chlorid****m-4F-Pt-PA-Cl** $C_{17}H_{23}N_3F_2ClPt$  (572.09)

weißes Pulver

Ausbeute: 38.58 mg (0.067 mmol, 67.38 %)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$  = 0.94 (t, <sup>3</sup>J=7.46Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.73-1.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.82 (t, <sup>3</sup>J=6.01Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 4.52-4.63 (m, 2H, CH-benzyl), 5.45 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.58 (br, 1H, NH), 6.41 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.04-7.11 (m, 4H, Ar-H), 7.12 (br, 1H, NH), 7.50-7.58 (m, 4H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 35.61 H 4.04 N 7.33

gef: C 35.60 H 4.26 N 7.54

**Chloro[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin][butylamin]platin(II)chlorid  
m-4F-Pt-BA-Cl**

C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>F<sub>2</sub>ClPt (586.10)

weißes Pulver

Ausbeute: 45.50 mg (0.077 mmol, 77.59 %)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$  = 0.84 (t, <sup>3</sup>J=7.44Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.32-1.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.70-1.78 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.75 (t, <sup>3</sup>J=5.14Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 4.52-4.59 (m, 2H, CH-benzyl), 5.32 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.61 (br, 1H, NH), 6.36 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.08-7.17 (m, 4H, Ar-H), 7.24 (br, 1H, NH), 7.53-7.59 (m, 4H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 36.86 H 4.29 N 7.16

gef: C 36.66 H 4.48 N 7.34

**Chloro[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin][hexylamin]platin(II)chlorid  
m-4F-Pt-HA-Cl**

C<sub>20</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>F<sub>2</sub>ClPt (614.14)

weißes Pulver

Ausbeute: 48.02 mg (0.078 mmol, 78.16 %)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$  = 0.83 (t, <sup>3</sup>J=6.64Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.25-1.40 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.70-1.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.80 (t, <sup>3</sup>J=5.96Hz, 2H, N-CH<sub>2</sub>), 4.50-4.61 (m, 2H, CH-benzyl), 5.32 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 5.60 (br, 1H, NH), 6.31 (br, 2H, NH<sub>2</sub>), 7.08-7.19 (m, 4H, Ar-H), 7.24 (br, 1H, NH), 7.51-7.61 (m, 4H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 39.03 H 4.75 N 6.83

gef: C 39.31 H 4.97 N 6.85

**Di(meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin)dichloro( $\mu$ -1,6-diaminohexan-N:N')diplatin(II)dichlorid****m-4F-Pt-DAH-Cl** $C_{34}H_{44}N_6F_4Cl_2Pt_2$  (1142.16)

weißes Pulver

Ausbeute: 50.33 mg (0.037 mmol, 37.56 %)

**$^1H$ -NMR ([D79]-DMF):**  $\delta$ = 1.25-1.30 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.74-1.83 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 2.52 (t,  $^3J$ =6.31Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 4.51-4.59 (m, 4H, CH-benzyl), 5.20 (br, 2H, NH), 5.41 (br, 2H, NH), 5.68 (br, 2H, NH), 6.21 (br, 3H, NH), 6.35 (br, 2H, NH), 7.03-7.15 (m, 8H, Ar-H), 7.24 (br, 1H, NH), 7.48-7.52 (m, 4H, Ar-H), 7.53-7.58 (m, 4H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 35.67 H 3.87 N 7.34

gef: C 35.40 H 3.66 N 7.17

**Di(meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin)dichloro( $\mu$ -1,9-diaminononan-N:N')diplatin(II)dichlorid****m-4F-Pt-DAN-Cl** $C_{37}H_{50}N_6F_4Cl_4Pt_2$  (1184.21)

weißes Pulver

Ausbeute: 65.79 mg (0.048 mmol, 47.61 %)

**$^1H$ -NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 1.25-1.41 (m, 10H, CH<sub>2</sub>), 1.70-1.83 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 2.95 (t,  $^3J$ =5.86Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 4.53-4.66 (m, 4H, CH-benzyl), 5.22 (br, 2H, NH), 5.40 (br, 2H, NH), 5.64 (br, 2H, NH), 6.27 (br, 6H, NH), 7.04-7.19 (m, 8H, Ar-H), 7.49-7.60 (m, 8H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 37.45 H 4.25 N 7.08

gef: C 37.49 H 4.30 N 7.24

**Di(meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin)dichloro( $\mu$ -1,12-diaminododecan-N:N')diplatin(II)dichlorid****m-4F-Pt-DAD-Cl** $C_{40}H_{56}N_6F_4Cl_4Pt_2$  (1226.26)

weißes Pulver

Ausbeute: 48.11 mg (0.034 mmol, 33.78 %)

**$^1H$ -NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 1.22-1.45 (m, 12H, CH<sub>2</sub>), 1.70-1.85 (m, 8H, CH<sub>2</sub>), 2.55 (t,  $^3J$ =5.94Hz, 4H, N-CH<sub>2</sub>), 4.51-4.72 (m, 4H, CH-benzyl), 5.30 (br, 4H, NH), 6.19 (br, 8H, NH), 6.99-7.15 (m, 8H, Ar-H), 7.46-7.66 (m, 8H, Ar-H)

**CHN:** ber: C 39.09 H 4.59 N 6.84

gef: C 39.14 H 4.72 N 6.70

### 9.2.3. Platin(II)-Dendrimer-Konjugate

Die Synthese der Dichloro- und Diiodokomplexe der Ethylendiaminterminierten Dendrimere geschieht wie bei den asymmetrischen und symmetrischen Platin(II)-Komplexen durch Zugabe von  $K_2PtCl_4$  bzw.  $K_2PtI_4$ , gelöst in Wasser. Die Verbindungen fallen als Feststoff aus, wenn zwei der drei möglichen Ethylendiamin-Bindungsseiten mit Platin besetzt sind. Im Fall der pegylierten Dendrimere sind alle drei Kopplungsstellen platiniiert. Abhängig von der Pegylierung sind die entstehenden Komplexe wasserlöslich, aber die Ambiphilie der PEG-Gruppe ermöglicht die Extraktion der wässrigen Phase nur durch wiederholtes Ausschütteln mit Dichlormethan.

Die 2,3-Diaminopropionsäure-terminierten Dendrimere werden platiniiert durch Zugabe von Aqua[meso-1,2-Bis(4-fluorphenyl)ethylendiamin]sulfatoplatin (II), **m-4F-PtSO<sub>4</sub>**, in Wasser und ca. zwei Tage gerührt. Die Komplexbildung geschieht vergleichbar wie die Koordinierung von Platin(II) an Dicarbonsäuren (s. 9.2.1.5). Die resultierenden Verbindungen werden ebenfalls mit Dichlormethan extrahiert.

Die Charakterisierung der Komplexe geschah durch <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie, wobei besonders die speziellen Veränderungen der NH-Signale der Ethylendiaminsignale im NMR-Spektrum beachtet wurden.

#### [1,3,5-Tris(2,3-diamino-N-propylpropionamid)benzen]platin(II)iodid

##### **G<sub>0</sub>(DAP-PtI<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(DAP)**

C<sub>24</sub>H<sub>45</sub>N<sub>9</sub>O<sub>3</sub>I<sub>4</sub>Pt<sub>2</sub> (1405.56)

gelbes Pulver

Ausbeute: 9.33 mg (0.006 mmol, 66.40 %)

<sup>1</sup>H-NMR ([D<sub>7</sub>]-DMF): δ= 1.88 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.58 (t, 6H, CH<sub>2</sub>Ar), 3.27 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N), 3.38 (m, 3H, CHCH<sub>2</sub>), 3.45 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N), 3.47 (dd, 3H, CHCH<sub>2</sub>), 4.19 (t, 3H, CH), 4.92 (br, 3H, NH), 5.43 (br, 6H, NH<sub>2</sub>), 5.85 (br, 3H, NH), 6.90 (s, 3H, Ar-H), 8.42 (br, 3H, NH)

#### [1,3,5-Tris(2,3-diamino-N-propylpropionamid)benzen]platin(II)chlorid

##### **G<sub>0</sub>(DAP-PtCl<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(DAP)**

C<sub>24</sub>H<sub>45</sub>N<sub>9</sub>O<sub>3</sub>Cl<sub>4</sub>Pt<sub>2</sub> (1037.96)

gelbes Pulver

Ausbeute: 8.65 mg (0.008 mmol, 83.33 %)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 1.86 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.55 (t, 6H, CH<sub>2</sub>Ar), 3.30 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N), 3.38 (m, 3H, CHCH<sub>2</sub>), 3.44 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N), 3.47 (dd, 3H, CHCH<sub>2</sub>), 4.19 (t, 3H, CH), 4.92 (br, 3H, NH), 5.44 (br, 6H, NH<sub>2</sub>), 5.87 (br, 3H, NH), 6.88 (s, 3H, Ar-H), 8.45 (br, 3H, NH)

**[1,3,5-Tris[3-(2,3-diamino-N-propylpropionamid)-5-[(5-dimethylaminonaphtalen-1-1-sulfonylamino)propyl]-N-propylbenzamid]benzen]platinum(II)iodid**

**G<sub>1</sub>(DAN)<sub>3</sub>(DAP-PtI<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(DAP)**

C<sub>99</sub>H<sub>132</sub>N<sub>18</sub>O<sub>12</sub>S<sub>3</sub>I<sub>4</sub>Pt<sub>2</sub> (2759.78)

gelbes Pulver

Ausbeute: 7.36 mg (0.003 mmol, 53.37 %)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 1.28 (m, 6H, H-CH<sub>2</sub>), 1.63-1.81 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.85-1.95 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.53 (t, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.66 (m, 12H, CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>), 2.84 (t, 6H, NH-CH<sub>2</sub>), 2.96 (s, 18H, CH<sub>3</sub>), 3.21 (m, 3H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.39 (m, 6H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.41 (m, 3H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.46 (dd, 3H, NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.53 (dd, 3H, NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.80 (t, 3H, CO-CH<sub>2</sub>), 4.95 (br, 3H, NH), 5.47 (br, 6H, NH<sub>2</sub>), 5.90 (br, 3H, NH), 6.96 (s, 3H, Ar-H), 7.07 (s, 3H, Ar-H), 7.28 (s, 3H, Ar-H), 7.40 (d, 3H, Ar-H), 7.58 (s, 3H, Ar-H), 7.53 (t, 3H, Ar-H), 7.68 (d, 3H, 2xAr-H), 8.19 (d, 3H, 2xAr-H), 8.21 (d, 3H, 2xNH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 8.43 (t, 3H, Ar-H)

**[1,3,5-Tris[3-(2,3-diamino-N-propylpropionamid)-5-[(5-dimethylaminonaphtalen-1-1-sulfonylamino)propyl]-N-propylbenzamid]benzen]platinum(II)chlorid**

**G<sub>1</sub>(DAN)<sub>3</sub>(DAP-PtCl<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(DAP)**

C<sub>99</sub>H<sub>132</sub>N<sub>18</sub>O<sub>12</sub>S<sub>3</sub>Cl<sub>4</sub>Pt<sub>2</sub> (2392.18)

gelbes Pulver

Ausbeute: 5.98 mg (0.002 mmol, 50.00 %)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):**  $\delta$ = 1.28 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.63-1.81 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.85-1.95 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.53 (t, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.66 (m, 12H, 2xCH<sub>2</sub>), 2.84 (t, 6H, NH-CH<sub>2</sub>), 2.96 (s, 18H, CH<sub>3</sub>), 3.21 (m, 3H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.39 (m, 6H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.41 (m, 3H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.46 (dd, 3H, NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.53 (dd, 3H, NH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 3.80 (t, 3H, CO-CH<sub>2</sub>), 4.95 (br, 3H, NH), 5.47 (br, 6H, NH<sub>2</sub>), 5.90 (br, 3H, NH), 6.96 (s, 3H, Ar-H), 7.07 (s, 3H, Ar-H), 7.28 (s, 3H, Ar-H), 7.40 (d, 3H, Ar-H), 7.58 (s, 3H, Ar-H), 7.53 (t, 3H, Ar-H), 7.68 (d, 3H, 2xAr-H), 8.19 (d, 3H, 2xAr-H), 8.21 (d, 3H, 2xNH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 8.43 (t, 3H, Ar-H)

**(1,3,5-Tris-[[3-(2,3-diamino-propionylamido)-propoxy]-[3,5-bis(1,3-bis-{2-[2-(2-methoxyethoxy)ethoxy]ethoxy}propan-2-yloxy)benzamidopropyl]]benzen)platinum(II)-iodid**

**PEG(DAP-Pt-I<sub>2</sub>)<sub>3</sub>**

C<sub>156</sub>H<sub>283</sub>N<sub>12</sub>O<sub>63</sub>I<sub>6</sub>Pt<sub>3</sub> (4679.591)

gelbbraunes Öl

Ausbeute: 19.88 mg (0.0042 mmol, 42.48 %)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):** δ= 1.82 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.84 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.50 (t, 6H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.18 (s, 36H, -OCH<sub>3</sub>), 3.25 (t, 6H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.31-3.54 (2m, 144H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.48+3.59 (2m, 12H, O-CH<sub>2</sub>+NH-CH<sub>2</sub>), 3.63 (m, 24H, -OCH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3.98+4.33+4.36 (3m, 9H, -CHNH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 4.58 (quint, 6H, -OCH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 5.40 (br, 8H, NH<sub>2</sub>), 5.78 (br, 4H, NH<sub>2</sub>), 6.82 (s, 3H, Ar-H:Core), 7.16 (s, 6H, Ar-H:Gallate)

**(1,3,5-Tris-[[3-(2,3-diamino-propionylamido)-propoxy]-[3,5-bis(1,3-bis-{2-[2-(2-methoxyethoxy)ethoxy]ethoxy}propan-2-yloxy)benzamidopropyl]]-benzen)platinum(II)-chlorid**

**PEG(DAP-Pt-Cl<sub>2</sub>)<sub>3</sub>**

C<sub>156</sub>H<sub>283</sub>N<sub>12</sub>O<sub>63</sub>Cl<sub>6</sub>Pt<sub>3</sub> (4130.882)

gelbes Öl

Ausbeute: 17.65 mg (0.004 mmol, 42.73 %)

**<sup>1</sup>H-NMR ([D7]-DMF):** δ= 1.82 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.84 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.50 (t, 6H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.18 (s, 36H, -OCH<sub>3</sub>), 3.25 (t, 6H, γ-CH<sub>2</sub>), 3.31-3.54 (2m, 144H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.48+3.59 (2m, 12H, O-CH<sub>2</sub>+NH-CH<sub>2</sub>), 3.63 (m, 24H, -OCH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3.98+4.33+4.36 (3m, 9H, -CHNH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 4.58 (quint, 6H, -OCH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 5.40 (br, 8H, NH<sub>2</sub>), 5.78 (br, 4H, NH<sub>2</sub>), 6.82 (s, 3H, Ar-H:Core), 7.16 (s, 6H, Ar-H:Gallate)

**Tri[(meso-1,2-Bis(4-fluorophenyl)ethylenediamin)platin(II)]-1,3,5-Tris-({3-[2-(2-carbamoylethyl)malonato]propoxy}-[3,5-bis(1,3-bis{2-[2-(2-methoxyethoxy)ethoxy]ethoxy}propan-2-yloxy)benzamidopropyl])benzen**

**SM-G<sub>1</sub>-(Mal-m-4F-Pt)<sub>3</sub>**

C<sub>207</sub>H<sub>324</sub>N<sub>12</sub>F<sub>6</sub>O<sub>75</sub>Pt<sub>3</sub> (4877.899)

weißes Pulver

Ausbeute: 8.93 mg (0.002 mmol, 36.61 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):**  $\delta$ = 1.88 (m, 12H, CH<sub>2</sub>), 2.10 (t, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.26 (t, 6H, CO-CH<sub>2</sub>), 2.61 (t, 6H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.28 (brs, 39H, -OCH<sub>3</sub>+COOH-CH), 3.35 (t, 6H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.41 (t, 6H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.42-3.64 (2m, 144H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.72 (m, 24H, -OCH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 4.05 (t, 6H, O-CH<sub>2</sub>), 4.60 (quint, 6H, -OCH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 6.06 (br, 2H, NH), 6.25 (br, 4H, NH), 6.51 (br, 2H, NH), 6.69 (br, 4H, NH), 6.89 (s, 3H, Ar-H:Core), 7.02-7.15 (m, 24H, Ar-H), 7.16-7.28 (m, 12H, Ar-H), 7.23 (s, 6H, Ar-H:Gallate)

**Tri[(meso-1,2-Bis(4-fluorophenyl)ethylenediamin)platin(II)]-1,3,5-Tris-[3-({4-[3-(5-dimethylamino-naphthalene-1-sulfonylamido)-propoxy]})-3,5-bis(1,3-bis{2-[2-(2-methoxyethoxy)ethoxy]ethoxy}propan-2-yloxy)]benzoylamido-propyl)-5-{{4-[3-[2-(2-carbamoyl)ethyl]malonato]-propoxy]})-3,5-bis(1,3-bis{2-[2-(2-methoxyethoxy)ethoxy]ethoxy}propan-2-yloxy)]benzoylamido-propyl}-benzoylamido-propyl]benzen**

**SM-G<sub>2</sub>-(DAN)<sub>3</sub>(Mal-m-4F-Pt)<sub>3</sub>**

C<sub>414</sub>H<sub>648</sub>N<sub>24</sub>O<sub>144</sub>S<sub>3</sub>F<sub>6</sub>Pt<sub>3</sub> (9056.039)

weißes Pulver

Ausbeute: 21.22 mg (0.002 mmol, 23.43 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO):**  $\delta$ = 1.61 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.74 (m, 24H, CH<sub>2</sub>+CH<sub>2</sub>), 1.96 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 2.13 (m, 6H, CO-CH<sub>2</sub>), 2.45 (t, 6H, Ar-CH<sub>2</sub>), 2.52 (m, 12H, Ar-CH<sub>2</sub>), 3.03 (t, 6H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.11 (s, 18H, -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.12 (2s, 72H, -OCH<sub>3</sub>), 3.21 (m, 21H, COOH-CH+NH-CH<sub>2</sub>), 3.26 (m, 6H, NH-CH<sub>2</sub>), 3.27-3.42 (2m, 288H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.45+3.56 (2m, 48H, -OCH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 3.80 (t, 6H, O-CH<sub>2</sub>), 3.92 (t, 6H, O-CH<sub>2</sub>), 4.37 (q, 6H, -OCH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 4.45 (q, 6H, -OCH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 6.62 (br, 4H, NH), 6.74 (s, 3H, Ar-H Core), 6.93 (br, 8H, NH), 7.05 (s, 6H, Ar-H Gallate), 7.09 (s, 3H, Ar-H Dendron), 7.11 (s, 6H, Ar-H Gallate), 7.18-7.24 (m, 18H, Ar-H), 7.26-7.32 (m, 18H, Ar-H), 7.33 (m, 6H, Ar-H Dendron), 7.55 (m, 3H, Ar-H Dansyl), 7.63 (m, 6H, Ar-H Dansyl), 8.18 (d, 3H, Ar-H Dansyl), 8.32 (d, 6H, Ar-H Dansyl), 8.87 (d, 6H, Ar-H Dansyl)

### 9.3. HPLC-Untersuchungen

#### 9.3.1. Untersuchung von Carboplatin-Infusionslösungen und Bestimmung eines auftretenden Nebenproduktes NP

##### 9.3.1.1. Verwendete Lösungen und Standards

Fertige Carboplatin-Infusionslösungen der Firmen:

- 1) Ribosepharm (Ribocarbo-L, Ch-B: 209922) = **FAM 1**
- 2) Ebewe (Carboplatin Pharmalink 10 mg/ml, Lot n. 101311) = **FAM 2**
- 3) Lachema (Cycloplatin 150 mg)
- 4) Bristol-Myers-Squibb (Carboplat 50 mg)

Vergleichssubstanzen:

- 1) Carboplatin (Ebewe)
- 2) CBDC, p.A. (Ebewe, Lancaster)
- 3) Na<sub>2</sub>CBDC (Ebewe, Merck)

*Prüflösungen a):*

Carboplatin 10 mg/ml-2J61220, 25°C, 7 Monate

Syn-NP, Messkonzentration 0.01 mg/ml, in H<sub>2</sub>O

Syn-NP, Messkonzentration 0.01 mg/ml, in KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Puffer

Aufspikeversuch: Carboplatin 10 mg/ml, 25°C, 7 Monate + Syn-NP, Messkonzentration 0.01 mg/ml

*Prüflösungen b):*

Syn-NP, Messkonzentration 2.1 mg/ml, in H<sub>2</sub>O

Syn-NP, Messkonzentration 0.15 mg/ml, in H<sub>2</sub>O

Carboplatin 101311, 25°C, 24 Monate, in H<sub>2</sub>O

Carboplatin 908182, 25°C, 36 Monate, in H<sub>2</sub>O

##### 9.3.1.2. Verwendete Puffer in der mobilen Phase

*Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Puffer:*

20 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> werden in MilliQ-Wasser gelöst. Nach Einstellung des pH-Wertes mit 0.1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf pH 3.0 wird die Lösung durch einen 0.45µM-Filter filtriert.

***KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Puffer:***

1.36 g/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und 0.50 g/l Na-Heptansulfonsäure werden in MilliQ-Wasser gelöst. Nach Einstellung des pH-Wertes mit H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> auf pH 3.55 wird die Lösung durch einen 0.45µM-Filter filtriert.

Alle verwendeten Elutionsmittel werden vor der Messung mindestens 15 min im Ultraschallbad entgast.

**9.3.1.3. Messbedingungen**

Zur Isolierung, Identifizierung und Vermessung des Nebenproduktes, der Fertigarzneimittel und der Vergleichssubstanzen wurde entweder mit deionisiertem Wasser verdünnt oder die Substanz unverdünnt injiziert.

Zur Analyse des Nebenproduktes NP erfolgten die Messungen in 100% Wasser, Methanol-Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Puffer-Lösungen 5/95 (V/V) oder 100% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaHeptansulfonsäure-Puffer.

Injektionsvolumen: 20µl

Wellenlänge: UV, 210nm

Flussrate: 1.50 ml/min

Temperatur: Raumtemperatur

Säule: Hyperosil ODS 5µm (I=250 + 40mm, ID=4.0mm) (*Prüflösungen a*) und *b*)); sonst s. 9.1.1.1.

**9.3.2. Untersuchungen zur Reaktivität von Platin(II)-Komplexen****9.3.2.1. Mobile Phase**

Vor der Verwendung als Fließmittel für die HPLC wird jedes Lösungsmittel mindestens 15 min im Ultraschallbad entgast.

**Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Puffer**

Vergleiche 9.3.1.2.

Als mobile Phase wurde ein Gemisch aus 2 Komponenten verwendet:

Komponente A: Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung; pH 3.0

Komponente B: Methanol, HPLC-rein

Die prozentuale Zusammensetzung wurde je nach Verbindung individuell gewählt, um optimale Retentionszeiten und Trennleistungen zu erhalten (s. **Tab 9.1**)

### 9.3.2.2. Kaliumiodid-Stammlösungen

Es wurden folgende Kaliumiodidlösungen für die Reaktivitätsuntersuchungen hergestellt:

Bestimmung von  $K_s$  und  $K_I^-$  (pH 6):

- 2.5 mM (50-facher KI-Überschuß)
- 5.0 mM (100-facher KI-Überschuß)
- 8.75 mM (175-facher KI-Überschuß)
- 12.50 mM (250-facher KI-Überschuß)
- 17.50 mM (350-facher KI-Überschuß)
- 25.00 mM (500-facher KI-Überschuß)

pH-abhängige Messung (5mM):

Für die pH-abhängigen Messungen wurden folgende pH-Bereiche gewählt:

- 3.5
- 4-4.5
- 5-5.5
- 6-6.5
- 7-7.5

Die pH-Einstellung der KI-Lösungen erfolgte mit verdünnter  $H_2SO_4$ , p.A.-Qualität.

### 9.3.2.3. Probenvorbereitung

Zur Kinetikmessung wurde eine  $50\mu M$  Lösung des jeweiligen Komplexes hergestellt. Es wurden für 50 ml Prüflösung  $2.5\mu M$  Komplex eingewogen, und im Messkolben durch Zugabe von 1 ml Methanol im Ultraschallbad 1 min angelöst. Mit der Zugabe der auf  $37^\circ C$  temperierten KI-Lösung begann die Zeitmessung.

### 9.3.2.4. Versuchsbedingungen

Flussrate: 0.6 ml/min  
Säulentemperatur: Raumtemperatur  
Injektionsvolumen:  $40\mu l$   
Probentemperatur:  $37^\circ C$  (Temperierung des Eppendorff-cups im Autosampler)  
Detektionswellenlänge: 254 nm, 268 nm (s. **Tab.9.1**)

Verbindung	Laufmittelzusammensetzung [%] Puffer <sup>a</sup> : Methanol		Detektionswellenlänge $\lambda$ [nm]	Empfindlichkeit (range)	t <sub>R</sub>	Zuordnung
Cisplatin <sup>K</sup>	10	90	315	0.01	3.91 4.73 8.99	PtCl <sub>2</sub> PtCl/I PtI <sub>2</sub>
m-4F-Cl <sub>2</sub> <sup>S</sup>	50	50	268	0.01	10.78 13.63 19.10	PtCl <sub>2</sub> PtCl/I PtI <sub>2</sub>
m-4F-malonat <sup>S</sup>	50	50	268	0.01	9.25 12.00 16.86	Ptmal Ptmal/I PtI <sub>2</sub>
RS-4F-Ph/Et-Cl <sub>2</sub>	60	40	268	0.01	8.01 10.11 14.82	PtCl <sub>2</sub> PtCl/I PtI/Cl PtI <sub>2</sub>
SR-4F-Ph/Et-Cl <sub>2</sub>	60	40	268	0.01	8.05 10.22 15.01	PtCl <sub>2</sub> PtCl/I PtI/Cl PtI <sub>2</sub>
RS-4F-Ph/iProp-Cl <sub>2</sub>	60	40	268	0.01	10.32 13.38 19.96	PtCl <sub>2</sub> PtCl/I PtI/Cl PtI <sub>2</sub>
SR-4F-Ph/iProp-Cl <sub>2</sub>	60	40	268	0.01	10.40 13.46 20.16	PtCl <sub>2</sub> PtCl/I PtI/Cl PtI <sub>2</sub>
RS-Ph/Met-Cl <sub>2</sub>	70	30	254	0.01	7.57 9.41 15.11	PtCl <sub>2</sub> PtCl/I PtI/Cl PtI <sub>2</sub>
SR-Ph/Met-Cl <sub>2</sub>	70	30	254	0.01	7.51 9.32 15.04	PtCl <sub>2</sub> PtCl/I PtI/Cl

					PtI <sub>2</sub>
m-4F-OH-Mal	50	50	268	0.01	8.76 10.58 15.40
m-4F-NH <sub>2</sub> -Mal	50	50	268	0.01	9.78 11.17 15.29
m-4F-AM-Mal	50	50	268	0.01	9.90 12.03 15.66
m-4F-MeO-Mal	50	50	268	0.01	8.90 10.93 15.51
m-4F-Mal-Ester	50	50	268	0.01	9.54 11.33 14.74
m-4F-SM-Mal	40	60	268	0.01	8.48/ 9.01

<sup>a</sup>: Puffer: Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Puffer (0.02 mM/pH=3)

<sup>K</sup>: nach Krauser [Krauser]

<sup>S</sup>: nach Schnurr [Schnurr]

**Tab.9.1** Laufmittelzusammensetzung, Detektionswellenlänge und Retentionszeiten der mit KI umgesetzten Verbindungen und ihrer Reaktionsprodukte

### 9.3.2.5. Auswertung mit dem Kinetiksimulationsprogramm KSIM

Methode: Runge-Kutta (R-K)

Accuracy: 5.0 (1 Teil in 100.000)

*Min Step* und *Max Step* wurden so angepasst, dass die Simulation mindestens 500 einzelne Berechnungsschritte umfasst.

Es kamen zwei Reaktionsgleichungen für die Simulation zur Anwendung, deren Formeln in

**Tab.9.2** zusammengestellt sind.

<u>Reaktionsgleichung</u>	<u>Anwendung für:</u>
E + I = ZW ZW + I = P	[1,2-Diarylethylendiamin]platin(II)- Komplexe
E + I = ZW1; E + I = ZW2 ZW1 + I = P; ZW2 + I = P	[1-Aryl-2-alkylethylendiamin]platin(II)- Komplexe

**Tab.9.2** Für die Simulation mit KSIM verwendete Reaktionsgleichungen und deren Anwendung

## 9.4. Pharmakologischer Teil, *in vitro*-Modelle

### 9.4.1. Krebszelllinien

#### 9.4.1.1. Kulturbedingungen und Passagieren

Die verwendeten Zelllinien werden als Monolayer in 250ml Gewebekulturflaschen mit 75 cm<sup>2</sup> Wachstumsfläche in wasserdampfgesättigter, 5% CO<sub>2</sub>-haltiger Atmosphäre bei 37°C kultiviert. Gearbeitet wird unter einer sterilen Werkbank. Bei ca. 80-90% Konfluenz erfolgt das Passagieren der Kulturen. Dazu wird das verbrauchte Medium abgesaugt und mit 10 ml PBS gewaschen, um tote Zellen zu entfernen. Dann werden 2 ml Trypsinreagenz dazugegeben und die anhaftenden Zellen durch mehrmaliges Schwenken von der Flaschenwand gelöst. Nach Entfernen des Trypsins inkubiert man die MCF-7- und die MDA-MB-231-Zellen für 2 Minuten im Brutschrank, die LNCaP/FGC-Zellen werden sofort weiterbehandelt. Durch Zugabe von 10 ml Kulturmedium, Umschwenken und mehrmaliges Auf- und Abpipettieren werden die Zellen vollständig von der Gefäßwand abgelöst und Zellverbände getrennt. Da LNCaP/FGC-Zellen zur Sphäroidbildung neigen, benötigt man bei diesen mindestens 5 Minuten. Zur Weiterzucht wird ein Teil dieser Suspension mit frischem Medium in eine neue Kulturflasche überführt und im Brutschrank bei 37°C inkubiert.

#### 9.4.1.2 Aussaat für Zytotoxizitätstests (1) und IC<sub>50</sub>-Wert-Bestimmung (2)

(1) Die Aussaat erfolgt im Anschluß an das Passagieren. Die Aussaatdichte ist abhängig von den Wachstumsparametern der jeweiligen Zelllinie, s. **Tab.9.3**.

Die benötigte Menge Zellsuspension wird mit 220 ml Kulturmedium vermischt und aus dieser Lösung werden mit einer 8-Kanalpipette je 100µl pro Well in 96-Loch-Mikrotiterplatten ge-

geben und bis zur Substanzzugabe je nach Kultur 2-5 Tage im Brutschrank inkubiert, um ein gleichmäßiges Anwachsen in den Platten zu gewährleisten.

Zelllinie	Aussaatdichte [Zellen pro ml Medium]	Inkubationsdauer bis zur Substanzzugabe
MCF-7	7000-7200	ca. 72h
MDA-MB 231	3200-3300	ca. 52h
LNCaP/FGC	25000-30000	ca. 120h

**Tab.9.3** Richtwerte für Aussaat und Anwachszeit

(2) Die Aussaat für den IC<sub>50</sub>-Test erfolgt wie unter (1) beschrieben mit 100µl Zellsuspension (ca. 10000 Zellen/ml für MCF-7, ca. 5000 Zellen/ml für MDA-MB-231) pro Well in 96-Lochplatten, welche dann 3 Tage im Brutschrank bei 37°C inkubiert werden.

#### 9.4.1.3. Substanzzugabe

(1) Nach der jeweiligen Inkubationszeit werden die zu testenden Substanzen mit Cisplatin als Referenzsubstanz zu den Zellen hinzugegeben. Von jeder Substanz wird eine 5 mM Stammlösung im passenden Lösungsmittel hergestellt, die dann auf die gewünschte Konzentration, meist 1 mM und 0.5 mM, verdünnt wird. Die Verdünnung von 1:1000 erfolgt durch Zugabe von 20µl der Lösungen zu 20 ml Medium, welche dann getestet wird. Schließlich wird das Medium von den Mikrotiterplatten abgesaugt und mit einer 8-Kanalpipette pro Well 200µl der Testsubstanz zugegeben. Jede Wirkstoffkonzentration wird in 16 Wells getestet, jeweils 16 Wells mit Lösungsmittel dienen als Kontrolle pro Platte. Die Mikrotiterplatten werden bis zur Messpunktabnahme bei 37°C inkubiert.

(2) Die zu testenden Substanzen werden als Stammlösungen in einer Konzentration von 50 mM in DMF, DMSO oder H<sub>2</sub>O (Aquasulfatokomplexe) angesetzt und mit dem jeweiligen Lösungsmittel zu Konzentrationen zwischen 0,1-50 mM verdünnt. Ein Verdünnungsschema ist in **Tab.9.4** dargestellt. Jede Konzentration wird 6-fach getestet. Dazu werden 10µl der Ausgangslösung bzw. das Lösungsmittel als Blindwert zu 10 ml Zellkulturmedium gegeben und gut durchmischt. Von dieser Mischung werden 200µl in je 6 Wells der 96-Lochplatte pipettiert, welche nun zwischen 48-96 h im Brutschrank bei 37°C/ 5% CO<sub>2</sub> inkubiert werden.

Für die Bestimmung der Ausgangszellmenge wird eine t<sub>0</sub>-Platte nach der Substanzzugabe bereits abgestoppt und mit Phosphatpuffer pH 7.4 im Kühlschrank gelagert.

<b>C (mM)</b>	<b>25</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>2</b>	<b>0.5</b>	<b>0.1</b>
<b>µl (mM</b> DMF- Stammlösung)	30 (50)	20 (50)	30 (10)	20 (10)	25 (2)	20 (0.5)
<b>+ µl DMF</b>	30	80	30	80	75	80

**Tab.9.4** Verdünnungsschema für die IC<sub>50</sub>-Wert-Bestimmung

#### **9.4.1.4. Messpunktabnahme (Abstoppen)**

(1) Das Abstoppen der Substanzeinwirkung erfolgt zu fünf verschiedenen Inkubationszeiten durch Absaugen des auf der Platte befindlichen Mediums. Dies muß möglichst vorsichtig geschehen, um die anhaftenden Zellen nicht zu zerstören und damit das Ergebnis zu verfälschen. Anschließend wird eine frisch hergestellte Lösung von Glutardialdehyd in PBS (1%ig für MCF-7- und MDA-MB-231-Zellen und 3%ig für LNCaP/FGC-Zellen) zugesetzt, um die Zellen am Boden der Platte zu fixieren. Nach 20-30 min bzw. 15 min für die LNCaP/FGC-Zelllinie wird diese Lösung entfernt, und nach Zugabe von 180µl PBS werden die Mikrotiterplatten bis zur Auswertung im Kühlschrank bei 4°C gelagert.

(2) Bei der Bestimmung des IC<sub>50</sub>-Wertes erfolgt nur einmaliges Abstoppen unter oben genannter Weise. Hierbei richtet sich die Inkubationszeit nach der untersuchten Zelllinie und der zu testenden Substanz.

#### **9.4.1.5. Kristallviolettassay zur Bestimmung der Zellmasse**

Die Mikrotiterplatten eines Testes werden zusammen an einem Tag gefärbt. Dafür wird im 1 min. Takt das PBS abgeschüttelt und 100µl 0,02%ige Kristallviolettlösung aufgebracht. Nach 30 min Einwirkzeit wird auch diese wieder abgeschüttelt und die Platten zweimal mit Wasser gewaschen. Beim dritten Waschvorgang bleibt das Wasser 15 min darauf stehen. Auf Zellstoff wird gründlich die überschüssige Flüssigkeit abgeklopft. Der in den Zellen enthaltene Farbstoff muß nun durch Zugabe von 180µl Ethanol 70% und anschließendem dreistündigen Schütteln in Lösung gebracht werden. Die Farbstofflösung wird mit einem *Microplate-Autoreader* bei 590 nm vermessen, wobei die optische Dichte jedes einzelnen Wells erfasst wird. Pro Substanz wird über Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen (s. Kap.7) mittels Microsoft Excel die Wirkung jeder untersuchten Verbindung bestimmt.

Bei der Untersuchung der IC<sub>50</sub>-Werte einer Substanz erfolgt die Berechnung nach Vermessen am *Microplate-Autoreader* nach Gleichung ... in Kap.7 mittels dem Origin 7.0-Programm.

## **9.4.2. Fibroblasten und Keratinozyten**

### **9.4.2.1. Kulturbedingungen und Passagieren**

#### **9.4.2.1.1. Fibroblasten**

Fibroblasten werden als Monolayer in 250 ml Kulturflaschen mit 75 cm<sup>2</sup> Wachstumsfläche in wasserdampfgesättigter, 5% CO<sub>2</sub>-haltiger Atmosphäre bei 37°C kultiviert.

Die Zellen werden gesplittet, sobald sie konfluent sind. Mehr als drei Passagen sind mit ihnen nicht möglich, da sie dann ausdifferenziert sind und nicht mehr weiter wachsen. Dazu wird das überstehende Medium abgesaugt und nach Waschen mit 10 ml PBS gibt man 1,5 ml Trypsin/EDTA-Lösung dazu und inkubiert im Brutschrank bis zur vollständigen Ablösung der Zellen vom Gefäßboden. Danach wird mit 3,5 ml Stop-Medium, was auch einfaches Medium sein kann, abgestoppt, die erhaltene Zellsuspension in ein Zentrifugenröhrchen gegeben, mit PBS nachgespült und nun alles zusammen bei 4°C und 1000 G für 5 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und die Zellen durch kräftiges Aufmischen vereinzelt. Anschließend wird entweder in einem neuem Kulturgefäß mit 15 ml Medium weiter kultiviert oder sofort die Aussaat durchgeführt.

#### **9.4.2.1.2. Keratinozyten**

Die Keratinozyten wachsen unter denselben Bedingungen wie für die Fibroblasten beschrieben. Sobald sie zu 70-80% konfluent sind oder anfangen zu differenzieren, müssen sie gesplittet werden. Dieser Vorgang ist ebenfalls nur zwei- bis dreimal möglich. Das Medium muß hierfür abgesaugt werden. Nach Waschen mit PBS wird 1,5ml Trypsin dazu gegeben und bis zur Ablösung der Zellen im Brutschrank inkubiert. Zur Kontrolle wird im Mikroskop beobachtet. Keratinozyten benötigen dafür längere Zeit als Fibroblasten; kräftiges Klopfen an der Kulturflasche beschleunigt diesen Vorgang. Danach wird mit 3,5ml Stop-Medium abgestoppt, die Zellsuspension in ein Zentrifugenröhrchen überführt und nach dem Waschen mit PBS unter oben genannten Bedingungen zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen, erneut mit PBS gewaschen und ein zweites Mal zentrifugiert. Nach abermaligem Verwerfen des Überstandes werden die Zellen entweder in Medium aufgenommen oder zur Aussaat sofort weiter verwendet.

#### **9.4.2.2. Aussaat**

Die Aussaat für den IC<sub>50</sub>-Test erfolgte wie in Abschnitt 9.4.1.2 beschrieben, allerdings nur mit den Fibroblasten, da sie einfacher und preiswerter zu kultivieren sind als die Keratinozyten. Dazu wird eine Zellzahl von 3000 Zellen pro ml Medium benötigt.

Der MTT-Test wird im Folgenden dargestellt:

##### **9.4.2.2.1. MTT-Test**

Der MTT-Test wird in 6- und 24-Lochplatten durchgeführt. Zur Aussaat werden 10<sup>5</sup> Zellen im jeweiligen Kulturmedium 1000µl pro Well pipettiert und die Mikrotiterplatten für 24 h im Brutschrank bei 37°C /5% CO<sub>2</sub> inkubiert.

Es werden Stammlösungen der zu testenden Verbindungen in den Konzentrationen von 0.5-10µM hergestellt und herunterverdünnt.

Nach der 24-stündigen Inkubationszeit erfolgt die Zugabe der jeweiligen Testlösung mit 20µl pro Well, wobei eine Dreifachbestimmung durchgeführt wird. Drei Löcher dienen als Blindwert und werden nur mit Lösungsmittel versetzt. Die Platten werden für weitere 20 h im Brutschrank inkubiert. Nach Ablauf dieser Zeit kommen in jedes Well 200µl sterile MTT-Lösung, und die Platten müssen 5 min geschüttelt werden. Anschließend wird für 4 h inkubiert. Die überstehenden Lösungen werden dann abgesaugt und zur Auflösung der gebildeten, violetten Formazankristalle wird 1ml DMSO zugegeben und nochmals für weitere 5 min geschüttelt. Aus jedem Well pipettiert man 200µl Lösung in eine 96-Loch-Platte und vermisst diese bei 540 nm mit dem *Microplate-Autoreader*. Als Nullwert dient hierbei das Lysereagenz DMSO.

##### **9.4.2.3. Substanzzugabe**

Die Substanzzugabe für die IC<sub>50</sub>-Wert-Bestimmung erfolgt nach demselben Verdünnungsschema wie in Abschnitt 9.4.1.3 beschrieben. Die Anwachszeit für die Fibroblasten beträgt 48 Stunden.

Der MTT-Test wird 24 Stunden nach der Aussaat weiter bearbeitet.

##### **9.4.2.4. Messpunktabnahme (Abstoppen)**

Die Messpunktabnahme wird nach Abschnitt 9.4.1.4 durchgeführt.

Der IC<sub>50</sub>-Wert wird nach drei Tagen abgestoppt, da die Zellen sonst konfluent werden und der Test nicht mehr auswertbar ist.

Der MTT-Test benötigt nach der Substanzzugabe weitere 20 Stunden bis zur Auswertung gemäß 9.4.2.2.1.

Die Auswertung des IC<sub>50</sub>-Testes wird über den Kristallviolettassay (s.9.4.1.5) erreicht.