

## University of Groningen

### Seek and Destroy

Hoorens, Mark Wilhelmus Henricus

DOI:  
[10.33612/diss.123015896](https://doi.org/10.33612/diss.123015896)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2020

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*  
Hoorens, M. W. H. (2020). *Seek and Destroy: Light-Controlled Cancer Therapeutics for Local Treatment*. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.123015896>

#### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

#### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.



# Chapter 9

## **Appendices**

## 9.1 English summary

Cancer is amongst the most common causes of death in the western world. This has been the driving force for the development of cytotoxic, cancer-killing chemicals, also known as chemotherapeutics. However, in patients, chemotherapeutic agents cause severe damage to healthy cells and tissues. This undesired activity of anti-cancer drugs in healthy cells and tissues could be avoided by establishing control over the activity of the drug with spatial and temporal precision. The field of photopharmacology aims to acquire such control, though the development of drugs of which the activity can be switched on and off with light. In the last years, several light-controlled chemotherapeutic agents were developed and characterized *in vitro*. Currently, we recognize two main challenges for the progress of photopharmacology. The first challenge is to acquire deeper understanding of the difference in behavior of the 'on' and 'off' isomer in a complex biological system. The second challenge is to develop new tools for visible light operated bio-active molecules, to avoid the use of toxic UV light.

In **Chapter 2** the potential of light-controlled bio-active molecules is reviewed as a research tool for molecular biology, aiming to explore the applications beyond clinical context. Nowadays, the function of proteins is studied by altering their net activity using a chemical or genetic tool and monitor the subsequent changes to the biological system. However, the current toolbox does not provide methods that can change protein activity with spatial and temporal precision in a reversible manner. This would make light-controlled bio-active molecules a superior tool in molecular biology.

The next chapters of this thesis describe the development of tools to fundamentally study how light-controlled drugs interact with proteins and complex biological systems. **Chapter 3** describes the development of a photoswitchable inhibitor for a protein with a known crystal structure. To that end, archaeal glutamate transporter Glt<sub>TK</sub> was chosen, which serves a mechanistic and structural model to study the similar family of glutamate transporters found in the human Central Nervous System. The development of an inhibitor with a 3.6 fold difference in activity between photo-isomers is described, which opens opportunities to acquire more structural insights both into the mechanism of transport and into the binding modes of the on and off state of the inhibitor. **Chapter 4** describes the development of a photoswitchable inhibitor for a kinase, which has been reported as a very challenging family of targets for photopharmacology. For the BRAF<sup>V600E</sup> kinase, we developed a photoswitchable inhibitor with an approximately 10-fold difference in activity between the thermal and irradiated state. However, this difference found on isolated protein could not be translated to differences in cell viability, likely due to off-target effects. The aim of the research presented in **Chapter 5** was to develop a molecular tool to study the behavior of a photo-switchable bio-active molecule in an animal model using Positron Emission Tomography (PET). Here we report the initial steps that explore the position on an earlier-reported photoswitchable HDAC2 inhibitor where a fluorine substituent is tolerated from both biological and photochemical perspective, so that is later can be replaced by radio-active <sup>18</sup>F.

The final chapters of this thesis describe the development of Iminothioindoxyl (ITI), a new visible-light-operated molecular photoswitch with a large band separation between the isomers. **Chapter 6** presents the initial characterization of the photochemical properties of ITI. Using a combination of UV/VIS spectroscopy and irradiation studies in NMR was determined that ITI can photo-isomerization from the thermally stable *Z* to the thermally unstable *E* isomer using 430 nm light. The *E* isomer has an absorption maximum over 500 nm and has a half-life of approximately 10 to 20 ms at room temperature. In **Chapter 7** is described how the properties of ITI can be tuned with substituents. We identified a position where electron donating substituents bathochromically shift the absorption maximum of the *Z* isomer. Furthermore, positions were identified that are sensitive to tune the thermal half-life of the *E* photo-isomer over a 100-fold. **Chapter 8** demonstrates how the photochemical properties of ITI can be tuned by protonation of the imine. We showed how protonation generally results in a red-light shift and increased absorptivity. Furthermore, the protonated *E*-isomer lives approximately 3 times longer than the neutral *E*-ITI. Hereby, due to the improved photochemical properties upon protonation, ITI opens opportunities for dual responsive systems controlled by both light and pH.

In conclusion, this thesis presents the development of molecular tools to study the behavior of both the 'on' and 'off' state of a photoresponsive drug in complex biological systems. This research provides information valuable for the rational design of future light-controlled drugs. Furthermore, we have developed a new visible light operated molecular photoswitch. This opens opportunities for the design of drugs of which the activity can be controlled with non-toxic visible light. Nowadays, the light-controlled anti-cancer drugs are not suitable for their use in the clinic. The results shown in the thesis will contribute to the development of light-controlled anti-cancer drugs, in order to seek and destroy tumor cells.

## 9.2 Nederlandse samenvatting

Kanker is een van de voornaamste doodsoorzaken in de westerse wereld. Dit is de drijvende kracht achter de ontwikkeling van cytotoxische, kanker dodende chemicaliën, ook wel bekend als chemotherapie. Helaas veroorzaakt chemotherapie in patiënten ook ernstige schade aan gezonde cellen en weefsels. Deze ongewenste activiteit van chemotherapie in gezonde cellen en weefsel kan voorkomen worden door chemotherapie te ontwikkelen waarvan de activiteit in tijd en ruimte gecontroleerd kan worden. Het onderzoeksveld 'photopharmacology' heeft als doel om deze controle over de activiteit van medicijnen te verkrijgen met behulp van licht. In de afgelopen jaren heeft dit enkele licht gecontroleerde anti-kanker medicijnen opgeleverd die getest zijn *in vitro*. Momenteel zien we twee grote uitdagingen voor de vooruitgang van photopharmacology. De eerste uitdaging is het begrijpen hoe de 'aan' en 'uit' isomeer zich gedragen in complexe biologische systemen. De tweede uitdaging is het ontwikkelen van moleculaire lichtschakelaren die werken met zichtbaar licht, om het gebruik van toxisch UV licht te voorkomen.

In **Hoofdstuk 2** beschrijven we het potentieel van licht gecontroleerde medicijnen voor onderzoek in moleculaire biologie. Gebruikelijk wordt de functie van een eiwit onderzocht door de netto activiteit te veranderen en vervolgens te observeren welke veranderingen er plaatsvinden in het biologische systeem ter gevolg. Echter beschikt geen enkele van de chemische en genetische middelen die nu beschikbaar zijn over de mogelijkheid om de activiteit van een eiwit te reguleren in de tijd en ruimte op een reversibele manier. Dit zou licht gecontroleerde biologisch actieve medicijnen een superieure techniek maken in moleculaire biologie.

In de volgende hoofdstukken beschrijven we de ontwikkeling van hulpmiddelen om de interactie tussen licht gecontroleerde medicijnen met eiwitten en complexe biologische systemen te onderzoeken. **Hoofdstuk 3** bevat de ontwikkeling van een licht gecontroleerde inhibitor voor een eiwit met een bekende kristalstructuur. Hiervoor kozen we *Archae* glutamaat transporter Glt<sub>TK</sub>, welke dient als een model eiwit voor mechanistische studies voor de familie van humane glutamaat transporters die in het centraal zenuwstelsel een belangrijke functie dient. We hebben een inhibitor ontwikkeld met een 3,6-voud verschil in activiteit tussen de photo-isomeren. Hiermee kan zowel een bijdrage geleverd worden aan het onderzoeken van het transport mechanisme als wel het begrijpen hoe de 'aan' en 'uit' vorm van de inhibitor bindt. In **Hoofdstuk 4** is de ontwikkeling van een licht gecontroleerde inhibitor beschreven voor een kinase, een family van eiwitten die tot op heden erg lastig is voor photopharmacology. Voor de BRAF<sup>V600E</sup> hebben we een inhibitor ontwikkeld met een 10-voud verschil in activiteit tussen beide photo-isomeer. Echt, was dit verschil meten op geïsoleerde eiwitten niet vertaald worden naar cel niveau, mogelijk door het beïnvloeden van activiteit van andere eiwitten. Het doel van het onderzoek in **hoofdstuk 5** is de ontwikkeling van een hulpmiddel om het gedrag van een licht gecontroleerd medicijn te volgen in een diermodel met behulp van Positron Emission Tomography (PET). Hier presenteren we de eerste stappen in het identificeren waar op een eerder gerapporteerde HDAC2 inhibitor een fluor atoom getolereerd is zonder

de biologische en fotochemische activiteiten te beïnvloeden. Dit alles het fluor atoom later vervangen kan worden door radioactieve  $^{18}\text{F}$ .

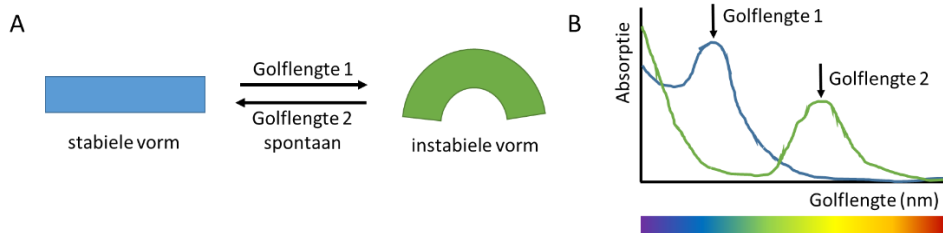
In de laatste hoofdstukken van dit proefschrift beschrijven de ontwikkeling van Iminothioindoxyl (ITI), een nieuwe met zichtbaar licht werkende moleculaire lichtschakelaar met een grote scheiding tussen absorptiebanden van beide isomeren. **Hoofdstuk 6** bevat de initiële beschrijving van de fotochemische eigenschappen van ITI. Met een combinatie van UV/VIS spectroscopie en bestraling studies in NMR was bepaald dat ITI foto-isomerisatie ondergaat van de thermisch stabiele *Z* isomeer naar de thermisch instabiele *E* isomeer met behulp van 430 nm licht. De *E* isomeer heeft een absorptie maximum rond de 500 nm en heeft een halfwaardetijd van ongeveer 10 tot 20 ms op kamertemperatuur. Vervolgens is in **Hoofdstuk 7** beschreven hoe de eigenschappen van ITI beïnvloed kunnen worden met substituenten. We hebben een positie geïdentificeerd waar electron donerende groepende resulteren het absorptiemaximum van de *Z* isomeer richting rood licht verschuiven. Verder hebben we twee posities gevonden waarmee we een meer dan 100-voud controle hebben over de halfwaardetijd van de *E* isomeer. In **Hoofdstuk 8** laten we zien dat de fotochemische eigenschappen van ITI beïnvloed kunnen worden door het protoneren van de imine. Protonering resulteert in een verschuiving van het absorptiemaximum richting rood licht en tot hogere extinctie coëfficiënten. Verder leidt protonering tot een 3-voud hogere halfwaardetijd voor de *E* isomeer in vergelijking met de ongeladen *E* isomeer. Doordat de fotochemische eigenschappen verbeterd worden door protonering, opent dit mogelijkheid voor het gebruik van ITI in systemen die gecontroleerd worden door zowel licht en pH.

In conclusie, dit proefschrift presenteert de ontwikkeling van hulpmiddelen om het gedrag van licht gecontroleerde medicijnen te onderzoeken in complexe biologische systemen. De waardevolle inzichten die deze onderzoeken gaan vergaren, zullen bijdragen aan de ontwikkeling van toekomstige licht gecontroleerde medicijnen. Verder hebben we ook een nieuwe moleculaire lichtschakelaar ontwikkeld, welke met zichtbaar licht bedient wordt. Dit opent nieuwe mogelijkheden voor het ontwikkelen van nieuwe licht gecontroleerde medicijnen die gebruikt kunnen worden zonder toxisch UV licht. Echter, momenteel is licht gecontroleerde chemotherapie nog niet geschikt voor toepassingen in de kliniek. De resultaten beschreven in dit proefschrift gaan een bijdrage leveren om dit doel te bereiken, 'Seek and Destroy' tumorcellen.

### 9.3 Populairwetenschappelijke samenvatting

Kanker is een van de voornaamste doodsoorzaken in de westerse wereld. Momenteel wordt kanker voornamelijk behandeld met operatieve verwijdering van tumoren, bestraling, chemotherapie of een combinatie hiervan. Chemotherapie beschrijft het gebruik van chemische moleculen voor het doden van tumorcellen. In de ontwikkeling van chemotherapie probeert men moleculen te maken die giftiger zijn voor tumorcellen dan voor gezonde cellen. Dit kan men bijvoorbeeld doen door moleculen te maken die het DNA beschadigen, waar snel delende tumor cellen vatbaarder voor zijn dan gezonde langzaam delende cellen. Een andere strategie is het ontwikkelen van remmers voor eiwitten die overactief zijn in tumorcellen in vergelijking met gezonde cellen. Toch komt het gebruik van chemotherapie in de praktijk met ernstige bijwerkingen en veel schade aan gezond weefsel, waar chemotherapie helemaal niet actief hoeft te zijn. Bijvoorbeeld, moleculen die DNA beschadigen doen, richten veel schade aan snel delende weefsels zoals in darmen en verstoort het remmen van eiwitten in gezonde cellen hun normale functie. Deze bijwerkingen zijn een grote beperking voor het gebruik en de ontwikkeling van chemotherapie en zijn bovenal erg onprettig voor patiënten.

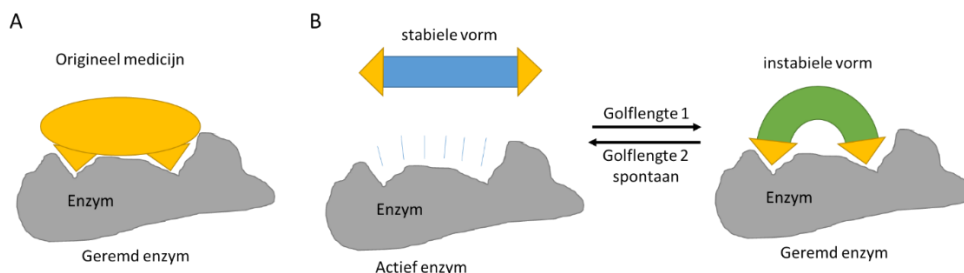
Om deze bijwerkingen te voorkomen, is er chemotherapie nodig die enkel schade aanricht aan een tumor en niet daarbuiten. Een mogelijk manier om dit te bereiken is het ontwikkelen van medicijnen die we met licht aan en uit kunnen zetten, in de Engelse wetenschappelijk term 'Photopharmacology' geheten. Het idee hierachter is dat chemotherapie in een inactieve vorm toegediend kan worden aan een patiënt. In deze inactieve vorm zou de chemotherapie geen schade aan moeten richten aan gezonde cellen en weefsels. Vervolgens wordt de tumor met licht bestraald, waarmee de chemotherapie aan wordt gezet en het de tumorcellen kan doden. Wanneer de moleculen buiten de tumor komen, worden ze niet meer bestraald en zetten ze zichzelf weer uit om geen schade aan te richten aan gezonde cellen.



**Figuur 1. A:** Representatie van de structuren van een moleculaire lichtschakelaar. **B:** Het absorptiespectrum van een molecuul beschrijft welke golflengtes licht het molecuul kan absorberen. Dit is verschillend voor de stabiele en de instabiele vorm van een lichtschakelaar, waardoor ze elk met een eigen golflengte bestuurd kunnen worden.

Het basisprincipe van photopharmacology is gebaseerd op moleculaire lichtschakelaren. Dit zijn chemische structuren die door het beschijnen met licht van structuur veranderen. Lichtschakelaren hebben zowel een stabiele en een instabiele vorm (zie **Figuur 1A**). Beide vormen hebben allebei een eigen absorptiespectrum (zie **Figuur 1B**), welke beschrijft licht met welke golflengtes ze kunnen absorberen. Door licht te schijnen dat door de stabiele

vorm wordt geabsorbeerd (Golflengte 1), verandert de lichtschakelaar naar de instabiele vorm. In feite wordt de energie van het licht gebruikt om de lichtschakelaar van de stabiele naar de instabiele vorm te buigen. Terug van de instabiele vorm kan door er licht op te schijnen van de kleur die bij de instabiele vorm hoort (Golflengte 2). De instabiele vorm kan ook spontaan terug naar de stabiele vorm, de snelheid waarmee dit gebeurt hangt af van de temperatuur en de structuur.



**Figuur 2. A:** Het originele medicijn kan binden aan het enzym en zo de activiteit remmen. **B:** Moleculaire lichtschakelaars kunnen gebruikt worden om een medicijn te maken wat met licht aan en uit kan worden gezet.

Het verschil in eigenschappen tussen de stabiele en instabiele vorm van een moleculaire lichtschakelaar kan gebruikt worden om medicijnen aan en uit te kunnen zetten. **Figuur 2A** geeft een voorbeeld van een origineel medicijn, in dit geval een enzymremmer. Deze enzymremmer past mooi op het enzym en remt zo de activiteit, alleen is deze enzymremmer nog niet gecontroleerd door licht. Gebaseerd op het originele medicijn wordt een moleculaire lichtschakelaar die voorzien is van enkele extra groepen om de eigenschappen van een enzymremmer te krijgen (zie **Figuur 2B**). In deze situatie is het medicijn in de stabiele vorm recht en deze kan niet binden aan het enzym om de activiteit te remmen. Pas na het schijnen van licht met golflengte 1, is het medicijn gebogen en kan het wel binden om het enzym te remmen. Dit kan weer ongedaan gemaakt met licht van golflengte 2. Hiermee kan met licht bepaald worden waar in de patiënt uiteindelijk het medicijn aan en uit staat.

Echter is dit nog toekomstmuziek; momenteel zijn door enkele onderzoeksgroepen de eerste stappen gezet in de goede richting. In de huidige staat van dit onderzoeksveld zijn er meerdere met licht gecontroleerde medicijnen ontwikkeld, maar deze hebben nog niet goed genoeg voor het daadwerkelijk behandelen van patiënten. In dit proefschrift beschrijven we de verdere ontwikkeling van photopharmacology voor chemotherapie, waarmee we hopelijk een stapje richting een mogelijke klinische toepassing.

In **Hoofdstuk 2** bespreken we hoe licht controleerde medicijnen naast toekomstige klinische toepassing ook te gebruiken zijn voor moleculair biologisch onderzoek. De functie van eiwitten wordt vaak onderzocht door de activiteit te verhogen of verlagen en vervolgens te observeren hoe het biologisch systeem hier op reageert. Als voorbeeld, wanneer cellen langzamer delen als een specifiek enzym geremd is, speelt dit enzym dus een rol in het reguleren van hoe snel cellen groeien. Licht gecontroleerde medicijnen



bieden extra mogelijkheden voor zulk onderzoek, omdat het effect omkeerbaar is en het de mogelijkheid biedt om bijvoorbeeld een enzym te remmen in een specifiek orgaan.

In de **Hoofdstukken 3, 4 en 5** onderzoeken we hoe licht gecontroleerde medicijnen zich gedragen in complexe biologische systemen. Zo weten we nog niet in detail hoe de stabiele en instabiele vorm van een medicijn interacties hebben met een enzym. Daarom hebben we in **Hoofdstuk 3** een remmer voor een transporteiwit ontwikkeld, samen met een onderzoeksgroep die gespecialiseerd is in eiwitkristallografie. Met de licht gecontroleerde remmer die we ontwikkeld hebben kan uitgevonden worden hoe deze binding er moleculair uit ziet. Dit gaat in de toekomst helpen bij het ontwikkelen en verbeteren van licht gecontroleerde medicijnen. In **Hoofdstuk 4** onderzoeken we licht gecontroleerde kinaseremmers. Kinases zijn enzymen die overactief zijn in veel soorten kanker en het remmen is effectief voor genezing. Helaas komen kinase remmers samen met ernstige bijwerkingen voor de patiënt. Helaas is het erg lastig gebleken om licht gecontroleerde kinaseremmers te maken en in dit hoofdstuk beschrijven wij de moeilijkheden die we ondervonden in de ontwikkeling van een licht gecontroleerde kinase remmer. In **Hoofdstuk 5** beschrijven we de ontwikkeling van een radioactief gelabeld licht gecontroleerd medicijn. Door het radioactief labelen van een medicijn kan bepaald worden waar in een patiënt of proefdier het zich bevindt. Hiermee kunnen we in de toekomst leren hoe een licht gecontroleerd medicijn zich gedraagt in een heel lichaam.

Om geschikt te zijn voor een klinische toepassing moet ook een moleculaire lichtschakelaar aan een hoop eisen voldoen. Allereerst is het belangrijk dat een lichtschakelaar werkt met zichtbaar en bij voorkeur rood licht, omdat licht van deze golflengten het makkelijkst door weefsel gaan en het minste schade doet. Echter de ontwikkeling van moleculaire lichtschakelaren die werken met zichtbaar licht is moeilijk, de nieuwe lichtschakelaren slecht oplosbaar of de absorptie van de stabiele en instabiele vorm overlappen, waardoor het aan en uit zetten erg lastig gaat. In **Hoofdstuk 6** beschrijven we de ontwikkeling van een nieuwe moleculaire lichtschakelaar, die we Iminothioundoxyl noemen. Deze lichtschakelaar werkt met zichtbaar licht, is goed oplosbaar en de absorptie van de stabiele en instabiele vorm is goed gescheiden. Vervolgens bestuderen we in de **Hoofdstukken 7 en 8** hoe we de eigenschappen aan kunnen passen. Deze nieuwe en betere moleculaire lichtschakelaar gaat hopelijk leiden tot verbeterde licht gecontroleerde medicijnen.

## 9.4 Acknowledgements

Wiktor, I am very thankful for the opportunity you gave me. My first year here was challenging: as an inexperienced chemist I had quite a lag phase and your help and patience where of great help. I deeply appreciate how we had good scientific discussions in which we had no problem to agree to disagree. I have considered it a privilege to work for a starting PI with fresh ideas and enough time for close supervision and discussion. I am happy you also gave me opportunity to work on my own ideas and allowed me to reflect my personal point of view in our outreach. You have been a true mentor.

Ben, I want to thank you for letting me work in your lab. Your enthusiasm has been contagious and I greatly enjoyed all the special events and celebrations after that one phone call. You have collected a group of high level scientists around you and it was a pleasure to work in this atmosphere!

Philip, thank you for role in my supervision. I have not been working on many topics directly related to your field of expertise but I think that especially because of this fact, you often helped with critical questions and good suggestions.

Laura and Vincent, I am honored to have the two of you on my sides during my defense as my paranymphs!

I would like thank my reading committee, Prof. dr. W.R. Browne, Prof. dr. R. Leurs and Prof. dr. J.M. van Dijl.

I want to thank my students, Laura Slappendel, Rob Lammers, Laura Slappendel again, Radu Bulai and Aldo van Wingaarden. I have always enjoyed supervising and seeing you all grow and develop. It has been educational for me as well to supervise and learn what to do and not to do as a supervisor. I want to thank you all for your scientific contribution to my thesis. It is great to see that results of Laura made it to chapter 5 and 6 and results of Aldo to chapter 7!

I would like to thank dr. Haigen Fu, Prof. dr. Gerrit Poelarends, Ria Duurkens, dr. Valentina Arkhipova, Gianluca Trinco and Prof. dr. Dirk-Jan Slotboom (all from the University of Groningen) for the fruitful collaboration of the photoswitchable glutamate transporter inhibitor, in which we all combined our specific technical expertise and knowledge. This resulted in my first paper ever, of which I still am most proud. I'm also very excited about all the follow-up work done on this project!

I also would like to thank dr. Marilena Ourailidou, Petra Ettema and Prof. dr. Frank Dekker (all from the University of Groningen) for their support in characterizing the biological activity of our photocontrolled BRAF inhibitors with my all-time favorite Western Blot technique. I enjoyed the many days I spent at pharmacy department to do the experiments. From the University of Kiel, I would like to thank Theo Rodat and Prof. dr. Christian Peifer for performing the off-target screening. I like how the poster session of the second Photopharmacology Symposium in Vic resulted in this collaboration.

Earlier Michael Lerch worked with a great group of collaborators to investigate the DASA photoswitch and after we invented the ITI photoswitch I was very happy to 'inherit' this network. From the University of Amsterdam I want to thank Prof. dr. Wybren Jan Buma and Michiel Hilbers for all the help with measuring ITI switches using transient absorption microscopy. I greatly enjoyed the trips to University of Amsterdam and all the discussions. Many thanks to dr. Mariangela di Donato from LENS, Florence for all the measurements and hosting me at the institute for three weeks. It was a great experience to help with the measurements, discuss the results and get better understanding of the system. For the computational support I would like to thank dr. Adèle Laurent (University of Nantes) and dr. Miroslav Medved' (University of Olomouc). I have been very impressed by the quality of calculations and how well the experimental results could be reproduced and which insights they provided in our system.

As from the very first day I have felt at home in lab 8.39. With Michael Lerch, Mickel Hansen, Kaja Sitkowska, Dusan Kolarski, Friederike Reessing, Piermichele Kobauri, Jana Volaric, Lucien Lameijer, Nadja Simeth, Ilse Welleman, Albert Schulte and all the students, the lab has always been a pleasant work environment. I learned so many things from all of you about science and chemistry through good questions, comments and stories. Besides only work, I had a lot of fun at all group events, work weeks, dinners, parties, borrels, spontaneous drinks, conferences and BBQs, with colleagues from either the Feringa group or the Chemical Biology groups with whom we share the floor.

It was a great pleasure to be affiliated to both the department of Radiology of the Medical Imaging Center / UMCG and the Stratingh Institute for Chemistry / FSE. Seeing both fundamental chemistry and a clinical setting was great, a strong collaboration! I would like to thank all the staff of both for all the secretarial and administrative support. I especially want to thank Tineke Kalter for your warmth and enormous support, you have helped so much by overcoming many organizational struggles. I also want to thank all involved in the analytical and technical support. In particular I would like to thank Pieter van der Meulen for help with NMR experiment and Marzia Nuzzolo and Paulien Nauw for keeping the 8<sup>th</sup> floor of Lineausborgh operational.

Furthermore I would like to thank my family, friends and most of all Stella for their support and listening to my stories.

Mark

Dear

