

University of Groningen

'Click for PET'

Campbell-Verduyn, Lachlan Schuyler

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:

2012

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

Citation for published version (APA):

Campbell-Verduyn, L. S. (2012). 'Click for PET': click chemistry as a tool for [18F] radiolabelling. s.n.

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.



Nederlandse Samenvatting

‘Click’ for PET: ‘Click’ chemistry as a tool for [¹⁸F]-radiolabelling

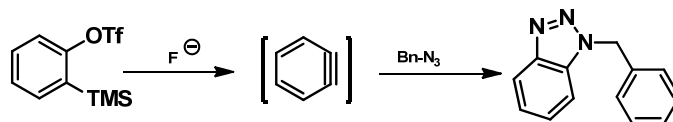
Het werk beschreven in dit proefschrift draait om het toevoegen van de 1,3-dipolaire cycloadditie van azides en alkynen aan de gereedschapskist van chemische reacties die gebruikt worden voor [¹⁸F]-radiolabeling van moleculen in positronemissietomografie. Positronemissietomografie is een techniek in de nucleaire beeldvorming waarmee een kwantitatief, driedimensionaal beeld van een variëteit van functionele processen in het menselijk lichaam gevormd kan worden. De beelden worden gevormd door middel van het toedienen van een met een radionuclide gelabeld biologisch molecuul met een korte halfwaardetijd aan de patiënt waarna het verval van de radionuclide, en de daarbij vrijkomende protonen, gevolgd wordt.

Binnen het vakgebied van de radiochemie is er een aantal unieke uitdagingen waar de chemicus rekening mee dient te houden: een korte synthetische tijdschaal als gevolg van het constante verval van de radionuclide, zeer kleine hoeveelheden van het radioactieve reagens, en een beperkt aantal methoden voor de karakterisatie. Naast deze uitdagingen is er ook nog de strikte eis dat de producten zuiver zijn en de resultaten reproduceerbaar zodat de ontwikkelde methodologie uiteindelijk ingezet kan worden voor het maken van verbindingen die in patiënten geïnjecteerd kunnen worden.

De kopergekatalyseerde 1,3-dipolaire cycloadditie van alkynen en azides (CuAAC) en zijn kopervrije tegenhanger, geïnitieerd door ringspanning, hebben zich beide bewezen als betrouwbare en orthogonale ligatiereacties. Met name de CuAAC is snel, selectief en robuust en werkt onder een scala aan reactiecondities. In een onderzoeksgebied waar simpliciteit en reactiesnelheid cruciaal zijn, spreekt het voor zich dat de zogenaamde ‘click’ chemie naar voren is gekomen als een uitstekende techniek voor radiolabeling.

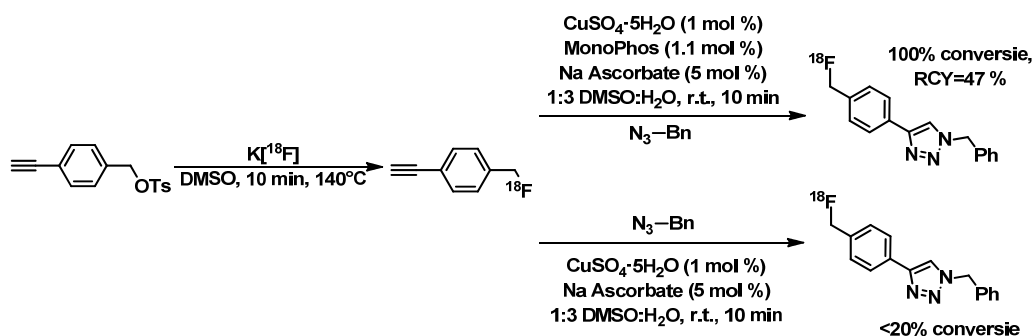
In dit proefschrift worden twee hoofddoelen nagestreefd; ten eerste het versnellen van de reactiesnelheid om het voor radiolabeling met [¹⁸F] geschikt te maken en ten tweede het verkennen van mogelijkheden om het gebruik van koper in de ‘click’ reactie te vermijden om *in vitro* en *in vivo* labeling mogelijk te maken.

In het begin van het onderzoeksproject werd gezocht naar alternatieve manieren voor het activeren van het alkyn om zo het gebruik van koper te vermijden. In Hoofdstuk 2 wordt een alternatief voor de kopergekatalyseerde azide-alkyn cycloadditie beschreven. Het *in situ* genereren van het zeer reactieve benzyn-intermediar maakte het mogelijk om de cycloadditie met azides uit te voeren in afwezigheid van koper leidend tot een variëteit aan benzotriazool producten (Schema 1).



Schema 1 Fluoride geïnduceerde benzynevorming gevolgd door *in situ* cycloadditie met azides.

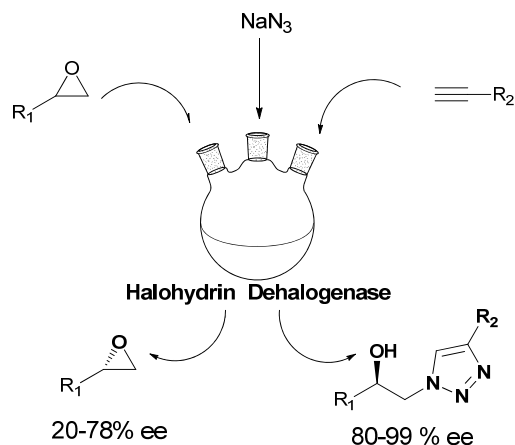
In Hoofdstuk 3 wordt het andere doel van het project verkend: het versnellen van de CuAAC om het geschikt te maken voor snelle radiolabeling. Hoofdstuk 3 beschrijft het onderzoek naar het versnellen van de CuAAC door middel van het toevoegen van een ligand. Een grote variëteit aan liganden werd gescreend onder de standaard ‘click’ condities om op deze manier het effect van de liganden op de reactiesnelheid te bepalen. Het toevoegen van het simpele fosoramidietligand MonoPhos aan de reactie verkortte de reactietijden dramatisch. Een experiment waarin de reactie zonder ligand en de door MonoPhos versnelde reactie van kleine [^{18}F]-probes met elkaar vergeleken worden, demonstreert dat het gebruik van MonoPhos tot een toename in conversie van meer dan 80% leidt in een reactie van 10 minuten (Schema 2).



Schema 2 Demonstratie van de versnelling van de CuAAC door MonoPhos.

Het werk dat in Hoofdstuk 4 wordt beschreven maakt optimaal gebruik van de sublieme selectiviteit van de CuAAC door deze reactie te combineren met een enzymatische transformatie. Door gebruik te maken van het halohydrin dehalogenase enzym (HheC) kan een racemisch epoxide zowel stereo- als enantioselectief geopend worden met een azide-anion leidend tot optisch zuivere azidoalcoholen. Het doel van dit gedeelte van het onderzoek was het combineren van een selectieve biotransformatie met de CuAAC om zo β -hydroxytriazolen te vormen (Schema 3). Na optimalisatie van deze tweestaps, één-potstransformatie werd een tracer, gebaseerd op het β -hydroxytriazoolmotief, gesynthetiseerd met als intentie deze te gebruiken voor de beeldvorming van cerebrale β -adrenerge receptoren. Alhoewel het niet mogelijk bleek om

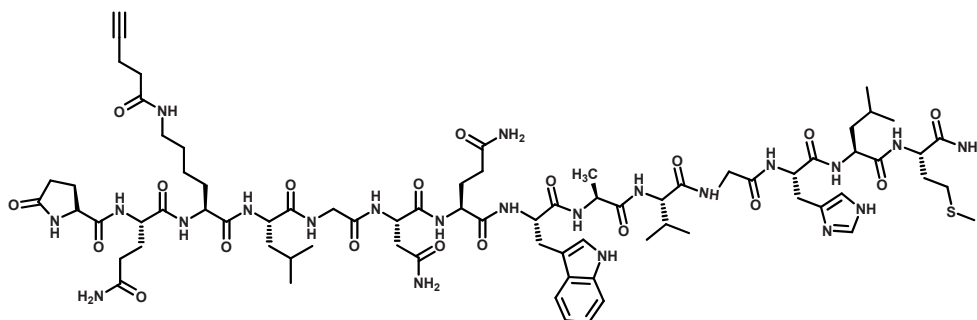
de verbinding enzymatisch te synthetiseren, kon de gewenste verbinding via chemische synthese in hoge opbrengst verkregen worden en de tracer vertoonde een veelbelovende *in vitro* affiniteit voor de doelreceptor.



Schema 3 Eén-potstransformatie van racemische epoxides naar optisch zuivere β -hydroxytriazolen.

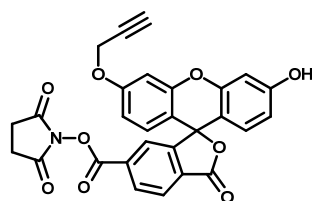
Hoofdstuk 5 en 6 beschrijven de modificatie en labeling van bombesine, een peptide met een hoge affiniteit voor de ‘gastrin releasing peptide receptor’ (GRPr) die massaal tot overexpressie is gebracht in bepaalde tumorcellen. Het doel van deze twee hoofdstukken was om een methode te ontwikkelen, gebaseerd op ‘click’ chemie, om bombesine selectief te labelen met [^{18}F] zonder de bindingsaffiniteit voor de doelreceptor aan te tasten.

In hoofdstuk 5 wordt bombesine gelabeld door middel van CuAAC. Bombesine werd gemodificeerd met een alkyne (Schema 4). Een azido [^{18}F]-bevattende prothetische groep werd gesynthetiseerd en door middel van een ‘click’ reactie aan bombesine bevestigd om zo de gemodificeerde radiotracer te verkrijgen.



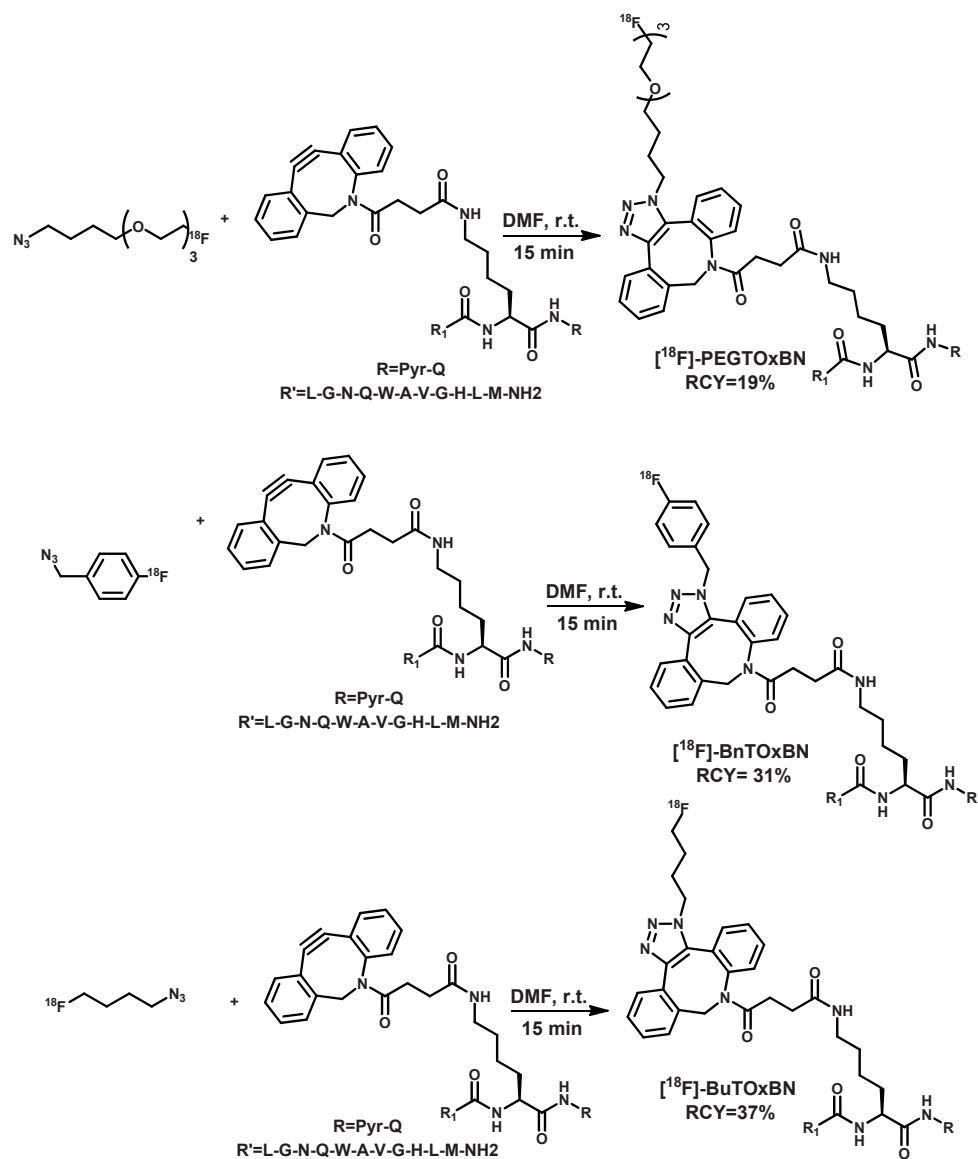
Schema 4 Alkynyl-gemodificeerd bombesine.

De *in vitro* bindingsaffiniteit van de nieuwe tracer voor de doelreceptor is getest en de hoge affiniteit voor de receptor bleef behouden. Vervolgens werd een ‘scaffold’ ontworpen waarin een fluorofoor, voor optische beeldvorming, en een alkyn, als handvat voor [^{18}F]-labeling, in één molecuul ingebouwd worden. Verschillende mogelijkheden zijn onderzocht en in het uiteindelijke ontwerp werd fluoresceïne opgenomen als integraal onderdeel van de ‘scaffold’ (Schema 5). De ‘scaffold’ is op een zo veelzijdig mogelijke manier ontworpen en in theorie kan het aan elk aminogroep bevattend doelbiomolecuul bevestigd worden voor labeling.



Schema 5 Multimodaal ‘scaffold’ ontwerp.

In Hoofdstuk 6 wordt een alternatieve manier van het labelen van bombesine beschreven. Een nieuwe synthetische route naar een bekende ‘gespannen’ aza-dibenzocyclooctyn verbinding werd ontwikkeld. Na controle dat de ‘gespannen’ cyclooctyn reactief genoeg is om op radiolabeling-tijdschaal [^{18}F]-bevattende triazolen op te leveren, werd het aza-dibenzocyclooctyn aan bombesine bevestigd. Het gemodificeerde peptide werd vervolgens gelabeld met drie verschillende [^{18}F]-azides. De labeling vond zeer snel, binnen 15 minuten, plaats en leverde triazoolverbindingen op met verschillende lipofiliteit (Schema 6). De bindingsaffiniteit van de tracers voor de doelreceptor werd getest en ondanks de relatief grote modificatie die geïntroduceerd is bleef de affiniteit voor de doelreceptor behouden.



Schema 6 Aza-dibenzcyclooctyn gemodificeerd bombesine gelabeld met verschillende [¹⁸F]-bevattende azides.