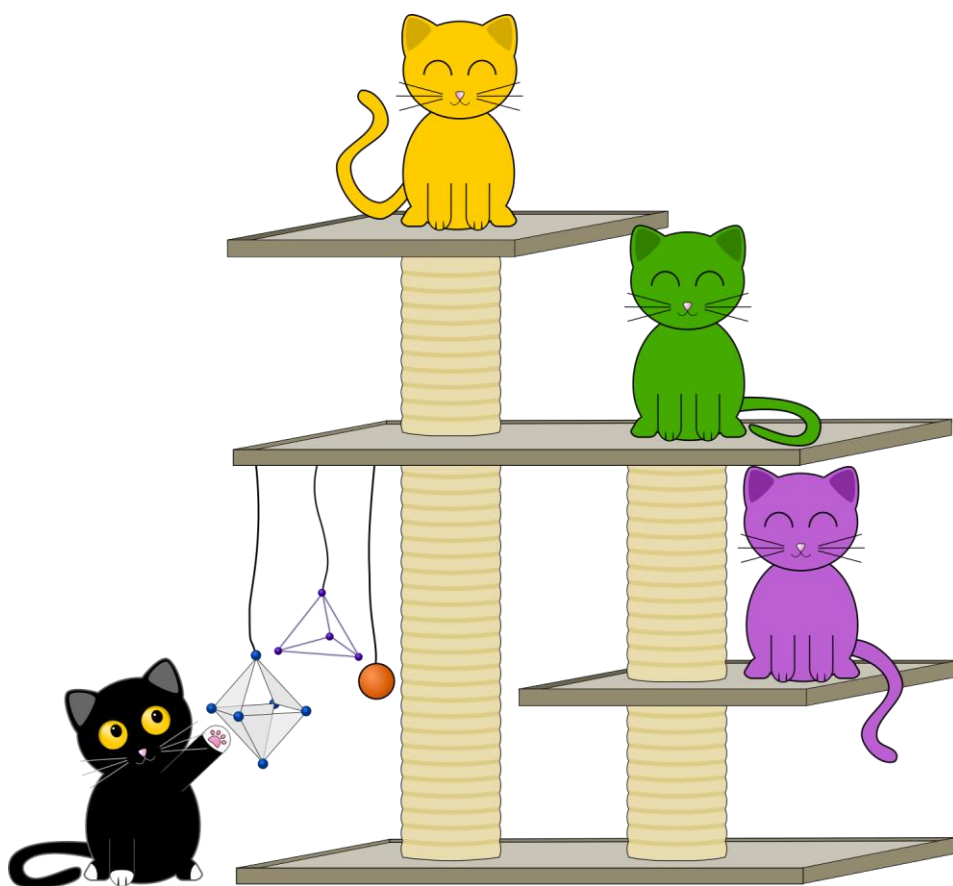


# Samenvatting



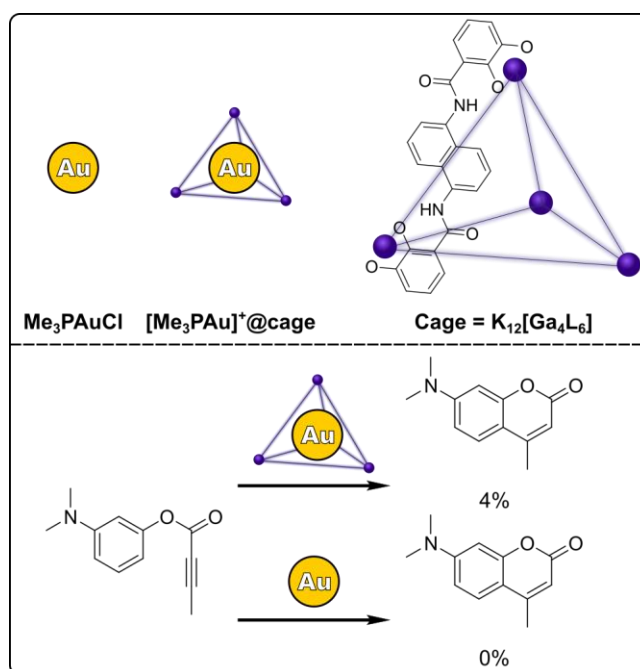


Overgangsmetaalkatalyse is van onschatbare waarde voor een zeer grote hoeveelheid chemische transformaties die anders zeer moeilijk zouden zijn. Binnen de synthetisch organische chemie in het lab is het bijna onmisbaar, maar de kracht van de overgangsmetaalkatalyse om chemische transformaties binnen een levende cel te kunnen sturen is nog maar recentelijk ontdekt. Alhoewel er in de natuur veel verschillende enzymen zijn die chemische reacties zeer efficiënt en selectief uit kunnen voeren, zijn deze enzymen vaak zeer beperkt met betrekking tot substraten en verschillende chemische transformaties. Om deze reden wordt steeds vaker overgangsmetaalkatalyse ingezet om ‘new-to-nature’ reacties uit te kunnen voeren binnen een levende cel. Een breed bereik aan efficiënte bioorthogonale overgangsmetaal gekatalyseerde reacties biedt mogelijkheden voor de verdere ontwikkeling van nieuwe biomoleculaire labelling en imaging, alsmede voor nieuwe mechanismes voor de activatie van prodrugs. Deze kennis van biologische systemen zou vervolgens kunnen gebruikt kunnen worden om ongewenste zijreacties tijdens behandelingen met medicijnen te kunnen voorkomen door verbetering van de specificiteit aan de hand van reacties waarbij activatie wordt gestuurd door een overgangsmetaal. Echter verschilt de omgeving binnen een levende cel aanzienlijk van de condities die typisch gebruikt worden voor overgangsmetaalkatalyse waardoor het bewerkstelligen van *in vivo* overgangsmetaalkatalyse zeker geen makkelijke taak is.

In **Hoofdstuk 1** wordt gekeken naar de ontwikkelingen binnen de *in vivo* overgangsmetaalkatalyse gedurende de afgelopen 20 jaar. Een grote hoeveelheid verschillende katalytische systemen zijn getest in combinatie met cellen om verschillende chemische transformaties uit te voeren. Het veld wordt vooral gedomineerd door relatief simpele ontschermingsreacties waarbij een kleine eindgroep wordt verwijderd om zo een actief fluorfoor of geneesmiddel te genereren. Enkele meer complexe reacties waarbij nieuwe bindingen gevormd worden of zelfs cross-coupling reacties, zijn ook al aangetoond. Een terugkomend thema bij deze reacties is katalysatorvergiftiging aan de hand van de biologische componenten aanwezig in de celomgeving: hoge concentraties aan metaalbindende moleculen, voornamelijk thiolen, binden vaak irreversibel aan het overgangsmetaal wat leidt tot deactivatie van de katalysator. Hierdoor worden er binnen dit veld voornamelijk lage opbrengsten en lage katalytische efficiëntie gemeld. Om katalysatorvergiftiging tegen te gaan zijn nieuwe strategieën nodig waarbij het overgangsmetaal wordt beschermd tegen vergiftiging en zo de katalytische werking binnen een cel verbeterd kan worden. Hiervoor stellen wij voor de katalysator in een supramoleculaire kooi te plaatsen. Er zijn een aantal verschillende literatuur voorbeelden van inkapseling in een supramoleculaire kooi waarbij er sprake is van selectiviteit op grootte. Hierbij kunnen kleine substraten wel bij de katalysator in de kooi, maar worden grote substraten geblokkeerd door de ramen van de kooi. Verder zijn er veel voorbeelden waarbij inkapseling van de katalysator leidt tot verbetering van de reactiviteit, met hogere opbrengsten en selectiviteit, als gevolg van verhoogde lokale concentraties van de katalysator, pre-orientatie van het substraat, en stabilisatie van reactieve katalytische intermediairen. Aan de hand hiervan stellen wij het mogelijk dat inkapseling van een overgangsmetaalkatalysator in een supramoleculaire kooi zou kunnen leiden tot bescherming van de katalysator tegen vergiftiging door de van grote biomoleculen toegang tot de metaalkern te blokkeren alsmede

dat de katalytische werking nog verder verbeterd zou kunnen worden door de andere hierbovengenoemde inkapselingseffecten.

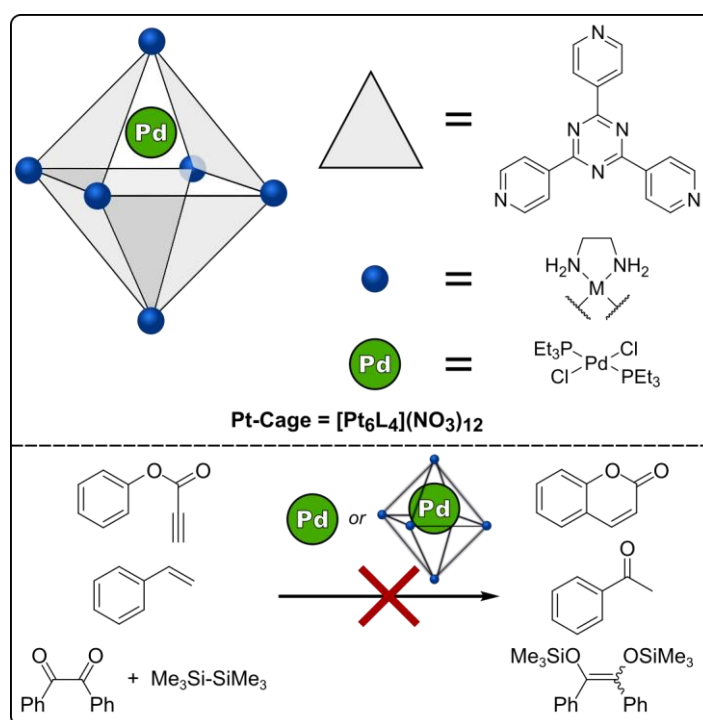
Deze hypothese werd in **Hoofdstuk 2** onderzocht, waarbij er werd gekeken naar de effecten van het inkapselen van een goud katalysator op de katalytische werking onder biologische condities. Een klein goud complex,  $\text{Me}_3\text{PAuCl}$ , waarvan bekend is dat het werkt als katalysator voor een intramoleculaire hydroarylatie waarbij een fluorescente kleurstof wordt gevormd, werd ingebracht in een kleine anionische supramoleculaire kooi die eerder gebruik was voor selectiviteit op grootte binnen katalytische reacties. Er is aangetoond dat onder aerobische condities in water en toevoeging van verschillende biologische additieven, het gebruik van het ingekapselde goud complex leidde tot een veel hogere opbrengst van het fluorescente product dan wanneer het vrije goud complex gebruikt werd (Figuur 1). De cytotoxiciteit van de reactieve componenten werd ook bepaald waarbij bleek dat het substraat zeer cytotoxisch is. Dit betekent dat slechts lage concentraties ( $1 \mu\text{M}$ ) substraat gebruikt kunnen worden binnen een levende cel. Echter wezen proeven met deze lage concentraties binnen een cel cultuur medium uit dat er onder deze omstandigheden geen katalyse plaatsvindt. Cel permeabiliteits onderzoek waarbij gebruikt werd gemaakt van confocal microscopie bleek dat het niet mogelijk is voor de kooi om de cellen binnen te dringen. Alhoewel deze katalyse dus ongeschikt is gebleken voor gebruik binnen levende cellen, heeft het wel de beschermende werking van het inbrengen van een katalysator in een supramoleculaire kooi aangetoond voor *en vivo* reacties. Dit laat dus zien dat inkapseling van een katalysator wel een bruikbare strategie is voor het verbeteren van katalyse onder biologische condities.



**Figuur 1.** Boven: Structure van de in hoofdstuk 2 gebruikte goud complex en supramoleculaire kooi. Onder: Opbrengsten van de goud gekatalyseerde intramoleculaire hydroarylatie onder biologische condities gebruikmakend van vrij en ingekapseld goud complex.

In **Hoofdstuk 3** is de strategie verder uitgebreid naar een palladium complex. Hierbij werd er gekozen voor een kationische supramoleculaire kooi omdat het van kationische en

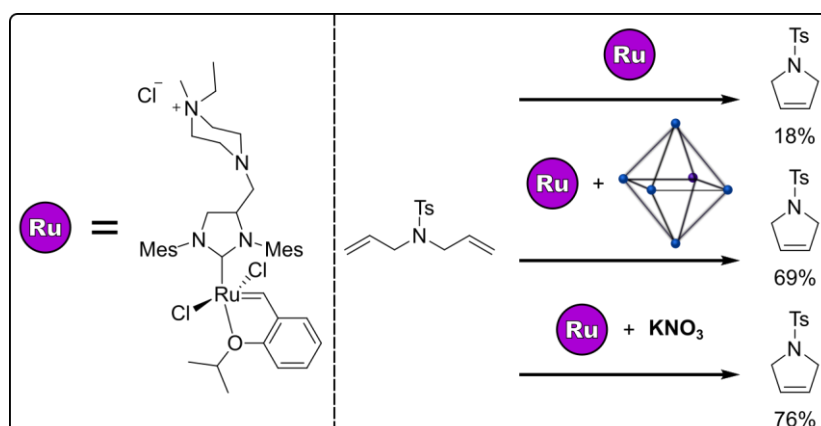
neutrale complexen bekend is dat deze beter cellen kunnen binnen dringen. Alhoewel op palladium gebaseerde kooien instabiel zijn onder biologische condities, hebben wij aangetoond dat analoge platina kooien wel stabiel zijn onder deze condities, zelfs in nanomolaire concentraties. Een klein palladium complex,  $[(Et_3P)_2PdCl_2]$ , is succesvol ingebracht in de platina kooi, echter was volledige opzuivering vervolgens niet mogelijk en werd er alleen een mengsel van vrij en ingekapselde complexen verkregen. De reactiviteit van dit mengsel is vervolgens onderzocht. Ten eerste werd onderzocht of het mengsel actief was als katalysator voor de intramoleculaire hydroarylatie en dus zou leiden tot productie van de bijbehorende fluorescente kleurstof. Echter, door een gebrek aan reproduceerbaarheid konden deze resultaten niet verder gebruikt worden. Voor verder onderzoek naar de reactiviteit van het ingekapselde palladium complex werden de Wacker-Tsuji oxidatie van styrene en de dubbele allylatie van benzil gebruikt als model systemen (Figuur 2). Echter werd in alle gevallen geen katalyse waargenomen en was het dus niet mogelijk om te bepalen of het ingekapselde complex katalytisch actief is.



**Figuur 2.** Boven: Structuren van het palladium complex en de platina kooi die gebruikt zijn in hoofdstuk 3. Onder: Intramoleculaire arylatie, Wacker-Tsuji oxidatie, en dubbele allylatie reacties die zijn geprobeerd met het palladium complex.

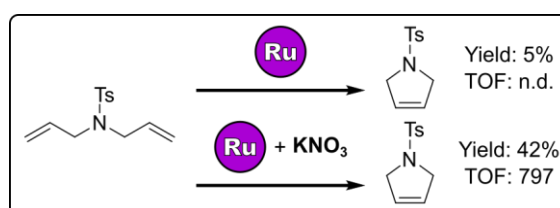
Vervolgens zijn wij in **Hoofdstuk 4** gaan onderzoeken of dezelfde platina kooi gebruikt zou kunnen worden voor het beschermen van een ruthenium olefine metathese katalysator. Inkapselen van de standaard apolaire metathese katalysatoren binnen de geladen kooi bleek niet mogelijk. Echter leidde de aanwezigheid van de kooi wel tot een grote verbetering van de katalytische activiteit van een in water oplosbare metathese katalysator, AquaMet. Invergelijking met analoge reacties uitgevoerd zonder kooi. De aanwezigheid van de kooi leidde tot een aanzienlijk snellere reactie waarbij een grotere opbrengst werd behaald. Interessant genoeg bleek dat deze verbetering niet het resultaat is van inkapseling van de katalysator, aangezien NMR spectroscopie, GFN2-xTB, en UV/Vis spectroscopie aantoonde

dat er geen interactie is tussen de katalysator en de kooi. In plaats daarvan bleek dat het de aanwezigheid van de nitraat tegenionen van de kooi is dat zorgt voor de grote toename in activiteit, en dat de activiteit van de metathese katalysator aanzienlijk verbeterd kan worden door aanwezigheid van kalium nitraat  $\text{KNO}_3$  (Figuur 3).



**Figuur 3.** Links: Structuur van AquaMet. Rechts: Opbrengsten van ruthenium gekatalyseerde ring sluitende metathese met AquaMet, AquaMet in aanwezigheid van de kooi, en AquaMet in aanwezigheid van nitraat.

In **Hoofdstuk 5** kijken wij verder naar de resultaten in aanwezigheid van nitraat om zo te onderzoeken hoe wij deze verbeterde reactie kinetiek kunnen gebruiken voor reacties onder biologische condities. Uit massa spectrometrisch onderzoek bleek dat de nitraat anionen de chloor ionen van het AquaMet vervangen om zo het analoge nitraat complex te vormen. Dit nieuwe nitraat complex is een veel effectievere katalysator dan het standaard chloride complex. De verbeterde reactie kinetiek werd ook waargenomen in de aanwezigheid van verschillende biologisch additieven (Figuur 4). Dit betekent dat toevoeging van nitraat aan AquaMet zorgt voor kinetische bescherming van de metathese reaction: reactie met het nitraat complex is dusdanig snel dat het veel substraat kan omzetten naar product voordat het vergiftigd en dan gedeactiveert word door de biologische additieven, in tegenstelling tot het chloride complex.



**Figuur 4.** Opbrengsten en omzet frequenties (gegeven in  $\mu\text{mol ethene mol cat}^{-1} \text{min}^{-1}$ ) voor de ring sluitings metathese in de aanwezigheid van biologische additieven met AquaMet of AquaMet in aanwezigheid van nitraat.

In deze thesis hebben we laten zijn dat er nieuwe strategieën nodig zijn binnen de *in vivo* overgangsmetaalkatalyse om vergiftiging van de katalysator te voorkomen en zo katalytische activiteit te verbeteren. Hiervoor hebben wij twee nieuwe strategieën ontwikkeld: fysieke bescherming, en kinetische bescherming. Een supramoleculaire kooi can gebruikt worden om een fysieke barriere om de katalysator te creeëren en zo deze te beschermen tegen vergiftiging. Echter is de keuze van katalysator en het ontwerp van het katalytische systeem

zeer belangrijk. Ten tweede moet de juiste balans gevonden worden betreffende de afmetingen van de kooi: hele kleine ramen zorgen voor optimale afscherming tegen biomoleculen, maar maken interacties met substraten ook moeilijker en beperken zo de hoeveelheid substraten die gebruikt kunnen worden. Ingevallen waar een grote substraat wenselijk is moet er een compromis gesloten worden waarbij er grotere ramen worden gebruikt zodat het substraat de kooi binnen kan maar waardoor ook kleinere biomoleculen toegang krijgen wat dus leidt tot beperkte bescherming van de katalysator. Als alternatief kan ook kinetische bescherming gebruikt worden. Alhoewel in dit geval katalysator vergiftiging nog steeds plaatsvindt, zal een reactie de snel genoeg verloopt nog steeds productief zijn omdat de katalyse plaatsvindt voordat de katalysator wordt gedeactiveerd waardoor het gewenste product nog steeds verregen kan worden. Alhoewel wij deze strategieën hebben toegepast op slechts drie verschillende katalysatoren, zijn wij ervan overtuigd dat deze strategieën potentie tonen om in de toekomst verder toegepast te worden bij andere katalysatoren en katalytische reacties.