

# SNAr-reaktioner klikker klikkemien videre

SNAr (Substitution Nucleophilic Aromatic) er en substitutionsreaktion, der med den seneste udvikling kan betragtes som en ny type af klikkemi, og som blandt andet kan bruges til fremstilling af komplekse benzen-forbindelser.

Af Frederik Diness, lektor, Roskilde Universitet

Klikkemien fik sit startskud i 2001 med oversigtsartiklen "Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions" [1] og blev så for alvor fløjet op i de højere luftlag med opdagelse af den arketypiske CuAAC klikreaktion samme år [1,2]. Som beskrevet andetsteds i dette særnummer var det på Carlsberg Laboratoriet, at Christian W. Tornøe og Morten P. Meldal opdagede reaktionen. Selvom de havde beskrevet reaktionen allerede i en proceeding i 2001, kender de fleste nok kun hovedpublikationen fra 2002 [1,2].

Samme år startede jeg som ph.d.-studerende med Morten som vejleder samme sted og overtog Christians stinkskab på tagetagen med træbjælker og skråvægge ved siden af det gamle bibliotek i hovedbygningen (figur 1). Interessant nok blev det til meget lidt CuAAC-kemi i den efterfølgende periode, for Morten var som altid hurtigt videre og i gang med de næste nye projekter. I mit tilfælde blev det videreudvikling af Pictet-Spengler kemien (INIAC-kemien), melanocortin receptor agonister og fastfase baseret celleassays.

## Opdagelsen (eller genopdagelsen) af SNAr-reaktionen

Fascinationen af meget effektive reaktioner var dog vagt og under min efterfølgende postdoc på det Farmaceutiske Universitet (nu en del af SUND på KU), faldt jeg over en anden reaktionstype, som har været en tro følgesvend siden. Som med CuAAC-reaktionen skete (gen-)opdagelsen ved et forsøg, hvor planen var en anden reaktion. Projektet omhandlede blandt andet arylering af polybenzimidazol og for at kunne analysere den funktionaliserede poly-

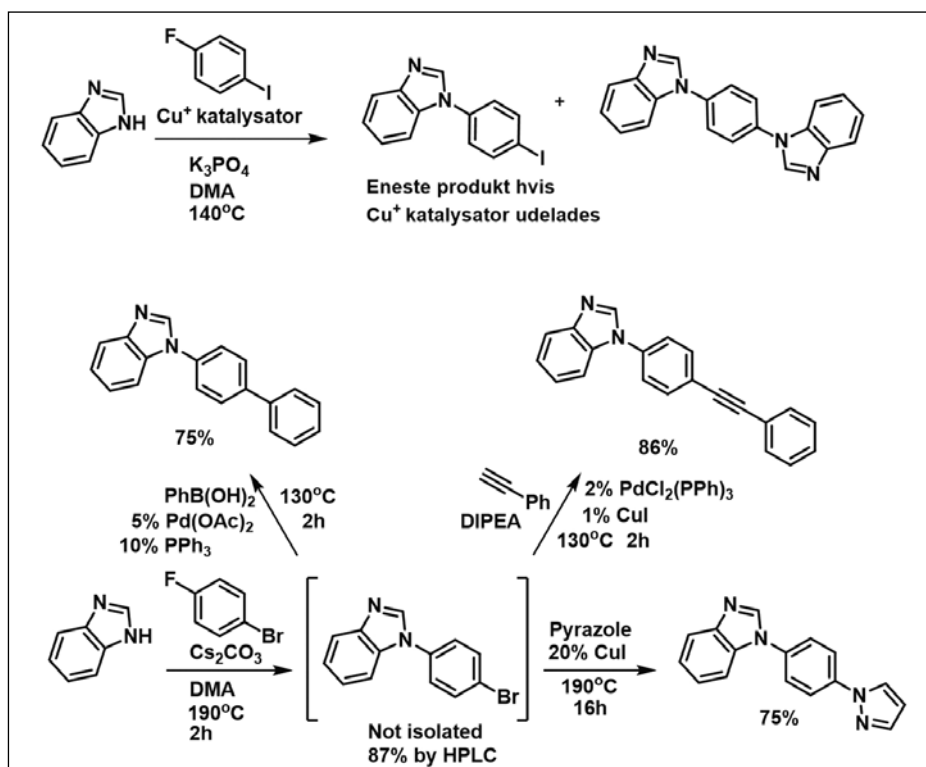


Figur 1. Billeder fra laboratoriet på Carlsberg Laboratoriet, hvor CuAAC klikreaktionen blev opdaget og Christian W. Tornøe, og efterfølgende jeg, arbejdede.

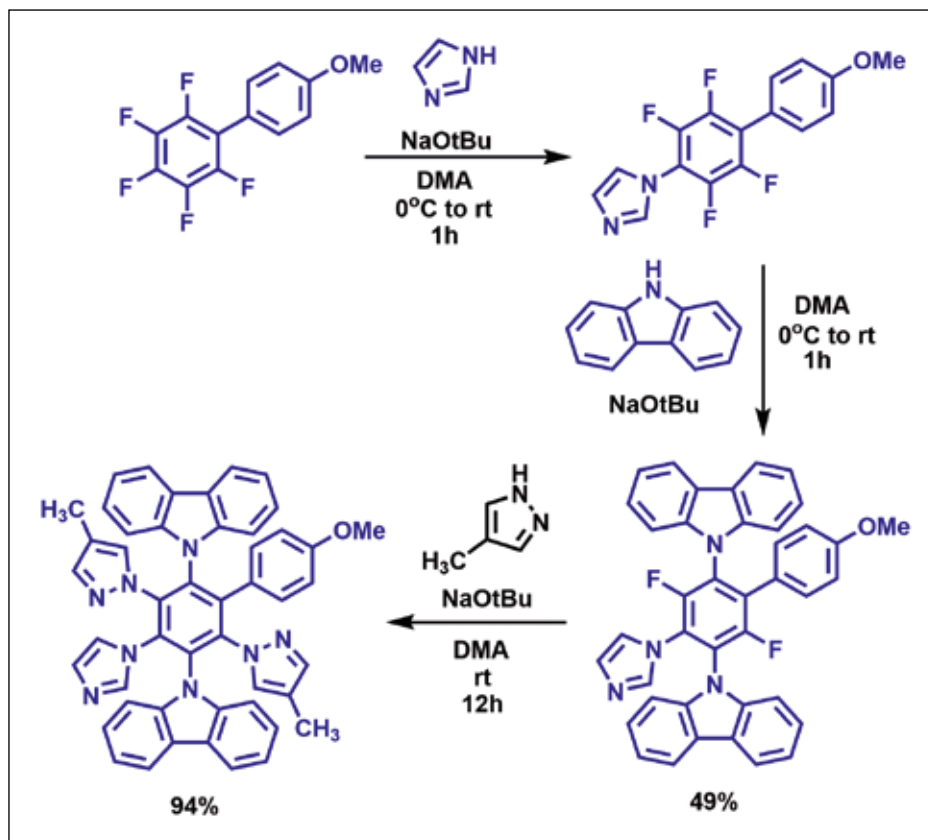
mer med  $^{19}\text{F}$ -nmr, blev der introduceret en fluorsubstituent i det iodobenzen substrat, der blev anvendt til udvikling af reaktionen.

Planen var en kobberkatalyseret

reaktion af Ullmann-typen, så der blev tilsat rigeligt med katalysator, en simpel base og så varmet godt op i dimetylacetamid (DMA) (figur 2).  $^{19}\text{F}$ -NMR viste dog mod forventning ingen aromatiske



Figur 2. SNAr arylering af benzimidazol med monofluorobenzenen.



Figur 3. SNAr aryleringsreaktioner med perfluorobenzener.



Figur 4. Billede af Center for Evolutionær Kemisk Biologi på Kemisk Institut, KU.

fluorsignaler og efterfølgende testreaktion med benzimidazol selv gav et højt overraskende resultat. Benzimidazol havde udskiftet fluor fuldstændigt, men kun delvist iod. Undlod man kobber, viste det sig, at kun fluor blev skiftet ud. Et kig tilbage i kemibogen gav ingen god forklaring og her står der i øvrigt stadigt i seneste udgave (2014):

*“Nucleophilic aromatic substitution occurs only if the aromatic ring has an electron-withdrawing substituent in a position ortho or para to the leaving group to stabilize the anion intermediate through resonance” [4].*

Graver man dog i en del artikler fra 70'erne og 80'erne, er det faktisk

beskrevet, at man kan lave nukleofil aromatisk substitution på perfluorbenzenen med blandt andet deprotonerede alkoholer [5]. Kemien viste sig hurtigt at være utrolig robust og alsidig, hvorfor videreudvikling af denne blev et fast sideprojekt i de efterfølgende år.

#### SNAr-reaktionens fordele

Et af de aspekter, der især er interessant i forhold til de traditionelle aryleringsreaktioner (som for eksempel Ullmann eller Buchwald-Hartwig koblinger) er, at reaktionen ikke kræver katalysator og man derfor undgår at skulle bruge dyre oxygenfølsomme overgangsmetaller, samt have rester af disse i produkterne.

Desuden er reaktionerne ortogonale til krydskoblingskemi (aryleringsreaktioner, der blev anerkendt med Nobelprisen i kemi 2010) og de kan derfor udføres i vilkårlig rækkefølge (endda samtidig), så de komplimenterer hinanden perfekt [6].

De fuldt fluorsubstituerede benzener er væsentligt mere reaktive, og mono-substitution på de fleste af disse er fuldstændt på få minutter selv ved stuetemperatur. Et velkendt fænomen for denne type SNAr-reaktioner er, at de øvrige fluorsubstituerer virker aktiverende, når de er placeret i orto- eller meta-positionen i forhold til det fluoratom, der bliver udskiftet. Forklaringen er balancen mellem fluors induktive (sigma) elektrontiltrækkende egenskaber og dets frie elektronpars donerende egenskaber ind i det aromatiske  $\pi$ -system [7]. Dette tillader sekventiel udskiftning af alle fluoratomer, hvilket giver mulighed for fremstilling af meget komplekse fuldt substituerede benzener (figur 3) [8].

#### Yderligere udvikling af SNAr-kemien

I 2013 mødtes Morten Meldals og mine veje igen med etablering af Center for Evolutionær Kemisk Biologi på Kemisk Institut, KU. Med en generøs femårs fyrtårnsbevilling fra KU var der lagt i kakkellovnen til, at der skulle ske noget. Vi startede i efteråret 2013 med helt tomme lokaler og fik så bygget laboratorier og kontorer op frem til sommeren 2014. De efterfølgende to år fik vi så i gennemsnit ansat en ny centermedarbejder hver måned (ph.d.-studerende eller postdoc).

I perioden arbejdede vi på mange forskellige typer af projekter inden for kemi og biologi med blandt andet CuAAC klikkemi som en af de centrale teknikker. Et par supplerende postdocbevillinger fra Villum Fonden gav dog mulighed for at videreudvikle SNAr-kemien sammen med Christian Borch Jacobsen og Daniel S. Nilsen. En retning blev nitrogen arylering af alifatiske aminer. Nøglen til succes med disse reaktioner viste sig at være reversibel deprotonering af aminerne med en sterisk hindret stærk base. LiHMDS-basen viste sig at have den helt rigtige styrke og steriske hindring. Mindre stærke baser gav enten ingen reaktion eller sideprodukter og meget stærke baser gav eliminationsprodukter via deprotonering af fluorbenzenerne (figur 5, side 22). Vi navngav de tre ruter ”the good, the bad and the ugly”, hvilket blev accepteret i artiklen [9]. Metoden blev blandt andet brugt til udvikling af en totrins-syntese ▶

af Vortioxetine, der på det tidspunkt var det nyeste lægemiddel fra Lundbeck A/S. Dette førte efterfølgende til et patent på teknologien, etablering af virksomheden AAA Chemistry ApS og en licensaftale med Lundbeck A/S.

## Anvendelse på biomolekyler

Kemien kan også anvendes på biomolekyler. Det første eksempel blev cyklisering af peptider via arylering af svovl på sidekæden af aminosyren cystein, der

blev udviklet i 2010 under min postdoc på University of Queensland Brisbane, Australien [10]. Som med Christians og Mortens klikreaktion blev denne pudsigt nok også uafhængigt udviklet i USA af en anden forskningsgruppe, der rapporterede metoden i 2013 [11]. Et interessant aspekt ved denne metode er, at den kan udføres på naturlige (ubeskyttede) peptider, hvilket ikke er tilfældet for langt de fleste andre cykliseringsmetoder.

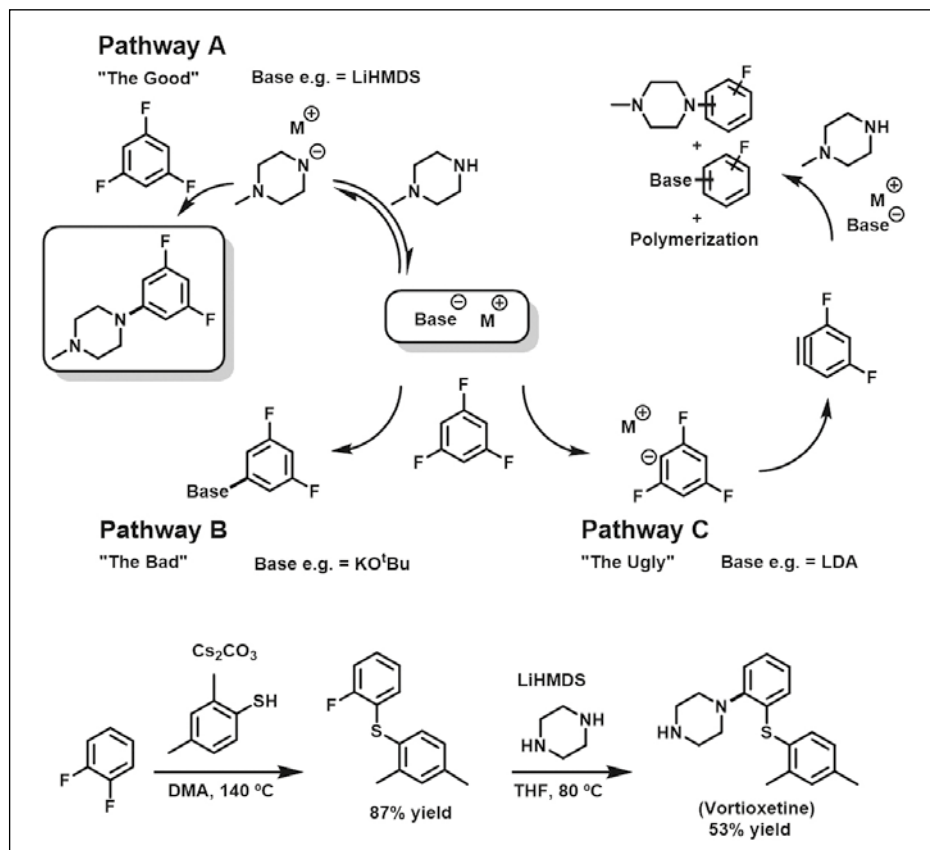
Ved Center for Evolutionær Kemisk Biologi blev kemien også videreudviklet af ph.d.-studerende Ahmed M. Embaby til effektiv protein konjugering, kovalent enzym inhibering og identifikation af aktive proteiner [12]. Ved kombineret af forskellige elektrontiltrækkende grupper var det muligt at finjustere reaktiviteten til netop det ønskede formål. I 2018 bevilligede Novo Nordisk Fonden to ph.d.-stipendier til videreudvikling af SNAr-kemien på proteiner. Under disse udvidede ph.d.-studerende Niklas Fischer cykliseringsmetoden til at omfatte cykliske melanocortin receptor agonister [13]. Desuden blev det demonstreret, at SNAr-kemien er orthogonal til endnu en anden klikreaktion, nemlig IEDDA-reaktionen, samt at dette kunne benyttes til at mærke proteiner med radioaktive isotoper [14].

## Materialefremstilling

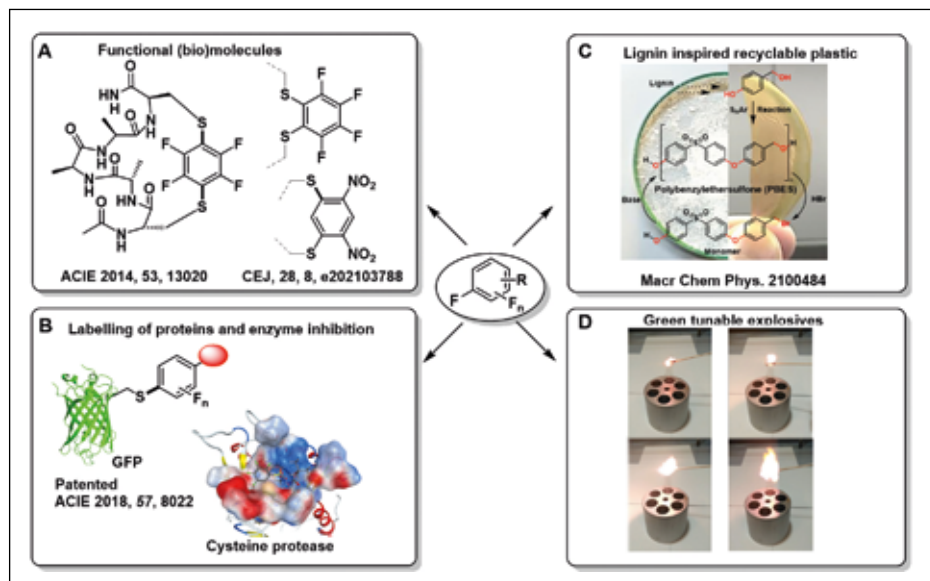
Materialefremstilling er et af seneste nye områder, hvor vi har anvendt SNAr-kemien, blandt andet til fremstilling af aromatiske polymerer inspireret af det naturlige fenolpolymer-lignin, der blev udviklet af ph.d.-studerende Sergei Nikitin (figur 6) [15]. Et aspekt ved den udviklede polymer, som vi fandt særligt spændende, var muligheden for at foretage kemisk depolymerisering og genanvende de dannede monomerer til nye polymerer. Det seneste skud på SNAr-kemien er udvikling af miljøvenlige sprængstoffer, hvor SNAr-kemien tillader, at deres sensitivitet og energiuadladning kan finjusteres.

## Udviklingen fortsætter

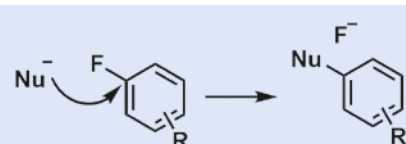
Klikkemien er på mange måder stadig et ungt forskningsfelt, og definitionen af en klikreaktion er ikke helt entydig [16]. Vores SNAr-teknologi har dog vist sig at være ekstremt effektiv og



Figur 5. SNAr arylering af alifatisk aminer.



Figur 6. Biomolekylær og materialeanvendelser af SNAr-kemi.



## SNAr-kemi

SNAr (Substitution Nucleophilic Aromatic) reaktion er en type af aromatisk substitutionsreaktion, hvor en negativt ladet gruppe (nukleofilen) angriber et aromatisk system og fortrænger en anden gruppe (afgående substuent). I tilfældet af fluorbenzener sker angrebet på den floursubstituerede ipso position, men de eksakte reaktionsmekanismer rummer stadig en del åbne spørgsmål.



Figur 7. Institut for Naturvidenskab og Miljø på Roskilde Universitet.

ortogonal til mange andre kemiske transformationer. Især mulighederne for at bruge SNAr-reaktioner til at sætte flere molekyler sammen, krydsbinde dem og styre deres orientering i forhold til hinanden, er unik inden for feltet af klikreaktioner. Desuden giver det centrale aromatiske system mulighed for at fintune reaktiviteten til det ønskede formål.

Københavns Universitet og Center for Evolutionær Kemisk Biologi har været gode rammer for udvikling af området. Fra starten af 2022 er udviklingen dog flyttet lidt vest på, da jeg fik tilbud om

at flytte min forskningsgruppe til helt nye laboratorier på Roskilde Universitet (figur 7). Her er fokus nu på bionedbrydelig plastik og protein-lægemiddelkonjugater. Både SNAr-kemien og samarbejdet med Morten fortsætter dog. Det har været inspirerende og utroligt lærerigt at arbejde sammen med Morten over de mange år. Der skal lyde en stor tak til alle dem, der har bidraget til udvikling af SNAr-kemien over årener med forskningsarbejde eller finansiering.

Afslutningsvis endnu engang stort tillykke til Morten Meldal med Nobelprisen i kemi 2022.

E-mail:  
Frederik Diness: [diness@ruc.dk](mailto:diness@ruc.dk)

Referencer

1. Kolb, H.C., Finn, M.G., Sharpless, K.B. (2001). *Angewandte Chemie International Edition*, 40(11), 2004-2021.
2. Tornøe, C.W., Meldal, M. (2001). In *Peptides: The Wave of the Future: Proceedings of the Second International and the Seventeenth American Peptide Symposium, June 9-14, 2001, San Diego, California, USA* (pp. 263-264). Springer Netherlands.
3. Tornøe, C.W., Christensen, C., Meldal, M. (2002). *The Journal of organic chemistry*, 67(9), 3057-3064.
4. McMurry, J.E. (2014). *Organic chemistry with biological applications*. Cengage Learning.
5. Bolton, R., Sandall, J.P.B. (1982). *Journal of Fluorine Chemistry*, 21(4), 459-467.
6. Diness, F., Fairlie, D.P. (2012). *Angewandte Chemie*, 124(32), 8136-8140.
7. Diness, F., Begtrup, M. (2014). *Organic letters*, 16(11), 3130-3133.
8. Chambers, R.D., Seabury, M.J., Williams, D.L.H., Hughes, N. (1988). *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, (2), 255-257.
9. Borch Jacobsen, C., Meldal, M., Diness, F. (2017). *Chemistry-A European Journal*, 23(4), 846-851.
10. de Araujo, A.D., Hoang, H.N., Kok, W.M., Diness, F., Gupta, P., Hill, T.A., Fairlie, D.P. (2014). *Angewandte Chemie International Edition*, 53(27), 6965-6969.
11. Spokoyny, A.M., Zou, Y., Ling, J.J., Yu, H., Lin, Y.S., Pentelute, B.L. (2013). *Journal of the American Chemical Society*, 135(16), 5946-5949.
12. Embaby, A.M., Schoffelen, S., Kofoed, C., Meldal, M., Diness, F. (2018). *Angewandte Chemie*, 130(27), 8154-8158.
13. Fischer, N.H., Fumi, E., Oliveira, M.T., Thulstrup, P.W., Diness, F. (2022). *Chemistry-A European Journal*, 28(8), e202103788.
14. Fischer, N.H., van den Broek, S.I.L., Herth, M.M., Diness, F. (2022). *RSC advances*, 12(54), 35032-35036.
15. Nikitin, S., Lie, Y., Diness, F. (2022). *Macromolecular Chemistry and Physics*, 223(13), 2100484.
16. Meldal, M., Diness, F. (2020). *Trends in Chemistry*, 2(6), 569-584.

## dPOFLEX fyldesystem med høj præcision



Det nye fyldesystem fra LONGER er en præcis doseringsløsning til brug i forskning, udvikling og mindre batchfyldninger. Leveres med PFC controller til individuel kontrol af op til 32 kanaler

- Doseringsnøjagtighed bedre end  $\pm 1\%$
- Præcisionsfyldning ned til 30  $\mu\text{L}$
- Overholder 21 CFR Part 11 og GMP



THE SCIENCE OF DISPENSING

KONTAKT OS PÅ 3679 0000 ELLER [INFO@DRIFTON.DK](mailto:INFO@DRIFTON.DK) – SE MERE PÅ [DRIFTON.DK](http://DRIFTON.DK)