

University of Groningen

## Photoresponsive antibiotics and cytotoxic agents

Sitkowska, Kaja Dorota

**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:*

2019

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

*Citation for published version (APA):*

Sitkowska, K. D. (2019). *Photoresponsive antibiotics and cytotoxic agents: On the use of light for the advancement of medicine and the knowledge of living organisms*. University of Groningen.

### 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.

**Summaries, table of abbreviations, author contributions and acknowledgements.**

## English Summary

This thesis describes research towards the use of light in combination with newly designed photosensitive compounds to counter bacterial resistance and the adverse effects of chemotherapy as well as novel light-induced fluorescent probes for visualization of oxidative stress in cells which is often connected to malicious changes in their homeostasis.

Chapter 1 concentrates on the topic of using light in biology. After a brief introduction on the properties and the role of light in biological processes, three main groups of compounds suitable for such application are described. Fluorescent probes, consisting of a fluorophore whose properties change depending on the status of a bound receptor selective towards specific molecules, have found their application in the visualization of biologically relevant processes in cells. Fluorescent probes targeting cancer cells have already potentially saved many lives, providing much help to the surgeons in finding small tumours, normally not visible by human eye. Photoprotecting groups and molecular switches, albeit different in their mechanism of action, have been successfully employed as moieties for modifying drugs to gain photosensitivity. These new compounds allow for the control of the activity of drugs by light and hold the promise of countering bacterial resistance by providing the means of safe storage (in the non-active form) and the possibility of their activation only at the site of action. The later property is also of great importance for limiting the adverse effects of both antibiotics and chemotherapy on healthy tissues. Although many examples of such compounds have been already reported, none of them has exceeded the proof of concept stage yet and the closing section of the introduction gives insight on the remaining challenges and how the research contained in this thesis will attempt to address them.

In Chapter 2, a protocol for the easy preparation of BODIPY based photoprotecting groups for amines is presented. These compounds were made as tool compounds to create further photoreleasable drugs and the developed pathways will be the foundation upon which the others contained within this thesis will be built upon. The compounds, bearing a carbamate linker between the chromophore and studied amines were irradiated with green light ( $\lambda_{\text{max}} = 520 \text{ nm}$ ) and their photocleavage process in aqueous media was studied. It turned out that the PPGs

could be selectively cleaved in 10 min leading to the formation of the desired amines. No significant degradation was observed when the samples of the compounds were stored in the dark for 24 hours.

Chapter 3 is a follow up of the system developed in Chapter 2. The compounds obtained therein are an analogous series of BODIPY based photoprotecting groups for amines, which are able to be cleaved with red light in the therapeutic window region ( $\lambda_{\text{max}} = 650 \text{ nm}$ ). The studies on the photocleavage process showed again fast and clean reactions of the protected amines with visible light and the lack of significant degradation in the dark over 24 hours in aqueous media. The most promising PPG was used for the protection of dopamine, a common neurotransmitter and cardiac drug. Biological studies on this compound will be performed by the group of Prof. Peter van der Meer (University Medical Center Groningen).

In Chapter 4, our attempts at using multicomponent reactions for the synthesis of compounds protected with BODIPY photoprotecting groups are described. The aim of the study in this chapter was to universalize the protocol for the synthesis of such compounds making the development of compound libraries far easier while avoiding having to perform additional individual optimization for each of the substrates, as was necessary for the PPGs introduced in Chapter 2 and 3. The chosen MCR, the Passerini reaction, yields the desired compounds in good to moderate yields (<40%). The light driven release of the cargo integrated to the carrier during the MCR was also studied and it was shown that the times needed for the full photocleavage of the obtained compounds was relatively long. This indicates that, while the MCR proved to be the powerful compound library building tool it was hoped to be, the choice of substrates used will need reconsideration before this method is fully viable.

Chapter 5 provides tangible examples of the usefulness of photoprotecting groups for countering bacterial resistance and the adverse effects of chemotherapy. In the first part of this chapter, our attempts at the preparation of photocleavable derivatives of Mitomycin C, a known chemotherapeutic and antibiotic, are described. Even though the syntheses of the desired compounds were successful, it turned out that the irradiation with light ( $\lambda = 365, 523 \text{ or } 650 \text{ nm}$ ) was not yielding

the desired compounds. In the second part of this chapter, our attempts towards the synthesis of two PPG-protected derivatives of Neomycin B and the study of the photochemical properties of one of these are described (*o*-nitrobenzyl protected Neomycin B). Despite the promising initial results it yielded in terms of retained activity towards *E. coli* after photocleavage, residual activity of the unprotected compound could also be observed. We hoped to solve this problem by preparing an analogous BODIPY derivative of Neomycin B, but in our hands the synthesis was unsuccessful due to degradation and further work towards this end is needed.

Chapter 6 focuses on the third category of photoactivable compounds, fluorescent probes. The goal of this study was to develop a BODIPY based probe for the visualization and quantification of oxidative stress in cells. The development of ligands for a gold nanoparticle carried fluorophore attached to a phenol /catechol based ROS sensor is described. The obtained compounds, styryl BODIPYs bearing free or protected OH groups were subjected to UV-Vis and Clark electrode studies to determine their potential as ROS probes. Due to the drastic changes in the absorbance spectra of the obtained compounds in the presence of chosen ROS in model micellar systems, they can serve as trapping agents for peroxy radicals.

## **Dutch Summary**

In dit proefschrift wordt het gebruik van nieuwe lichtgevoelige verbindingen beschreven, met als doel het tegengaan van bacteriële resistentie en de nadelige bijwerkingen van medicatie zoals bij chemotherapie. Daarnaast worden ook nieuwe licht-geïnduceerde sondes beschreven die kunnen worden ingezet voor het zichtbaar maken van oxidatieve stress, die regelmatig verbonden wordt aan kwaadaardige veranderingen aan de homeostase van de cel.

Hoofdstuk één heeft als thema het gebruik van licht in biologie. Na een korte inleiding in de eigenschappen en rollen van licht in diverse biologische processen, wordt verder ingegaan op drie hoofdgroepen van verbindingen die ingezet kunnen worden voor de hierboven beschreven doelen. Fluorescerende sondes bevatten een fluorescerende groep waarvan de eigenschappen veranderen afhankelijk van de staat van een eraan verbonden receptor die gevoelig is voor bepaalde moleculen. Deze sondes worden voornamelijk ingezet in het visualiseren van biologisch relevante processen in

cellen. Fluorescerende sondes die specifiek op kankercellen reageren hebben mogelijk al vele levens gered, door chirurgen in staat te stellen kleine tumoren op te sporen die doorgaans onzichtbaar zijn voor het blote oog. Hoewel de mechanismes van werking verschillen, zijn foto-beschermende groepen en moleculaire schakelaars beiden met succes gebruikt als functionele groepen op reeds bestaande medicijnen om deze van fotosensitiviteit te voorzien. Deze nieuwe verbindingen kunnen selectief geactiveerd worden door blootstelling aan licht en geven daardoor hoop op het tegengaan van bacteriële resistentie tegen deze verbindingen door het mogelijk te maken deze in een veilige (niet actieve) vorm op te slaan en slechts te activeren daar waar de activiteit ook nodig is. Deze eigenschap is ook van belang bij het tegengaan van schadelijke bijwerkingen van zowel antibiotica en chemotherapie in gezonde weefsels. Hoewel een groot aantal voorbeelden van dit soort verbindingen al bekend is in de literatuur, is hiervan nog geen enkele voorbij het conceptuele stadium gekomen. De afsluitende paragrafen van dit hoofdstuk gaan daarom verder in op de nog uitdagingen die hiervoor overwonnen moeten worden en hoe het in dit proefschrift behandelde werk poogt om deze uitdagingen aan te gaan.

In Hoofdstuk twee wordt een nieuw, eenvoudig protocol voor de synthese van op BODIPY gebaseerde foto-beschermgroepen (FBG) voor amines beschreven. Deze verbindingen werden gesynthetiseerd om als basis te dienen voor de ontwikkeling van medicijnen die door licht vrij kunnen komen en de synthetische routes die hiervoor zijn ontwikkeld dienen als basis voor de andere protocollen die in dit proefschrift worden beschreven. De verbindingen, die een carbamaat bevatten tussen de chromofoor en de bestudeerde amine, werden met groen licht ( $\lambda_{\max} = 520 \text{ nm}$ ) beschenen en de het proces van fotolyse in water van deze verbindingen is in kaart gebracht. Het werd hierbij duidelijk dat de FBG's binnen tien minuten selectief konden worden gesplitst, waarbij de gewenste amines werden gevormd. Geen significant bewijs voor verdere ontleding van de gewenste producten werd geobserveerd als ze gedurende 24 uur in het donker werden opgeslagen.

Hoofdstuk drie borduurt voort op het systeem dat in Hoofdstuk twee is ontwikkeld. De verbindingen die in dit hoofdstuk staan beschreven, zijn een analoge serie aan de BODIPY gebaseerde foto-beschermgroepen voor amines. Deze verbindingen kunnen met rood licht in het therapeutische bereik ( $\lambda_{\max} = 650 \text{ nm}$ ) worden

gesplitst. Bij de fotolyse van de beschermgroep werd de beschermde amine wederom snel en zonder nevenreacties ontschermd met licht uit het zichtbare bereik. In het donker bleef de verbinding in een waterig medium verder stabiel gedurende 24 uur. De meest belovende FBG werd vervolgens ingezet om dopamine te beschermen, een veel voorkomende neurotransmitter en cardiologisch medicijn. Biologische testen op deze verbinding worden uitgevoerd door de groep van Prof. Peter van der Meer (Universitair Medisch Centrum Groningen).

In hoofdstuk vier worden de pogingen beschreven om multi-component reacties (MCR's) te gebruiken in de synthese van verbindingen beschermd door BODIPY-gebaseerde FBG's. Het doel van het onderzoek in dit hoofdstuk was om een universeel protocol voor dit type verbindingen vast te stellen, om hiermee sneller en eenvoudiger bibliotheken van vergelijkbare verbindingen te maken, zonder dat het nodig is om voor elke nieuwe verbinding een nieuwe, tijdrovende optimalisatie uit te voeren, zoals het geval was voor de verbindingen die in hoofdstukken twee en drie staan beschreven. De gekozen multi-component reactie, de Passerini reactie, gaf de gewenste verbindingen met matige tot goede opbrengsten (<40%). De licht-aangedreven vrijgave van de actieve lading, geïntegreerd in de verbinding tijdens de MCR is ook bestudeerd en hierbij is aangetoond dat de benodigde tijd voor het volledig fotolysen van alle FBG's relatief lang was. Dit geeft aan dat, hoewel de MCR zoals verwacht een krachtige en eenvoudige methode is om een bibliotheek te bouwen, de keuze van te gebruiken substraten verder moet worden uitgewerkt, voordat de methode echt inzetbaar kan worden.

Hoofdstuk vijf biedt tastbare voorbeelden van hoe zinvol FBG's kunnen zijn bij het tegengaan van bacteriële resistentie en de bijwerkingen van chemotherapie. In het eerste deel van dit hoofdstuk wordt de synthese van een fotolysbaar derivaat van Mitomycin C beschreven, een bekende chemotherapeutische verbinding, alsook een antibioticum. Hoewel de synthese hiervan succesvol is verlopen en het gewenste product is verkregen, bleek dat de verbinding bij blootstelling aan licht ( $\lambda = 365, 523$  or  $650$  nm) niet de gewenste ontledingsproducten opleverde. In het tweede deel van dit hoofdstuk staat de synthese van een tweetal FBG-beschermde derivaten van Neomycin B, en de bestudering van het fotochemische gedrag van één van de twee derivaten (o-nitrobenzyl-beschermde Neomycin B) beschreven. Ondanks dat de initiële resultaten bemoedigend waren, in termen van

behouden activiteit van de verbinding tegen E. coli na fotolyse, kon er ook restactiviteit van de niet-beschermde verbinding worden vastgesteld. Er is vervolgens geprobeerd om dit probleem op te lossen door een analoge BODIPY-derivaat van Neomycin B te maken, maar de synthese hiervan bleek onsuccesvol als gevolg van de snelle ontleding van deze verbinding tijdens de synthese, waardoor er nog aanvullend werk nodig is om deze methode werkend te krijgen.

Hoofdstuk zes richt zich op de derde categorie van foto-activeerbare verbindingen, fluorescerende sondes. Het doel van dit onderzoek was om een sensor te ontwikkelen op basis van BODIPY, die in staat is om de oxidatieve stress in cellen zichtbaar en kwantificeerbaar te maken. De ontwikkeling van liganden voor een op een gouden nanodeeltje gedragen fluorofoor, verbonden aan een op fenol of catechol-gebaseerde reactieve zuurstof-soorten (ROS) sensor wordt hier beschreven. De verkregen verbindingen, styryl BODIPY's met ofwel vrije, of beschermde OH-groepen werden blootgesteld aan UV-Vis en Clark-electrode analyses om hun geschiktheid als ROS-sensoren. Op basis van de grote veranderingen in de absorbtiespectra van de verbindingen in de aanwezigheid van geselecteerde ROS in model micellaire systemen, kunnen deze verbindingen ingezet worden om peroxy radicalen op te vangen.

## **Polish Summary**

W niniejszej pracy opisane są badania ukierunkowane na zastosowanie światła w połączeniu z nowo zaprojektowanymi związkami czułymi na światło. Celem syntezy tych związków jest przeciwdziałanie oporności bakteryjnej i efektom ubocznym chemoterapii oraz uzyskanie nowych, indukowanych światłem sond fluorescencyjnych do wizualizacji stresu oksydacyjnego, który często łączony jest z negatywnymi zmianami w homeostazie komórek.

Rozdział 1 skoncentrowany jest na tematyce zastosowania światła w biologii. Po krótkim wstępie dotyczącym właściwości i roli światła w procesach biologicznych, opisane są trzy główne grupy związków odpowiednich do tego typu zastosowań. Sondy fluorescencyjne znalazły zastosowanie w obrazowaniu procesów istotnych biologicznie w komórkach. Składają się one z fluorofora, którego właściwości zmieniają się w zależności od stanu związanego z nim receptora, który ma za zadanie selektywnie wiązać się z określonymi molekułami. Sondy fluorescencyjne



zdolne do rozpoznawania komórek nowotworowych prawdopodobnie uratowały już wiele istnień, oferując znaczną pomoc chirurgom w wykrywaniu zmian nowotworowych niewidocznych dla ludzkiego oka.

Grupy fotozabezpieczające oraz przełączniki molekularne, mimo różnic w mechanizmie działania, zostały z powodzeniem zastosowane jako ugrupowania do modyfikacji leków, zapewniając im fotoczułość. Tego typu związki pozwalają na kontrolę aktywności leków przez światło i wykazują potencjał przeciwdziałania oporności bakteryjnej, zapewniając warunki bezpiecznego przechowywania (w nieaktywnej formie) oraz możliwość ich aktywacji w wybranym miejscu działania. Ta właściwość jest szczególnie ważna przy ograniczaniu efektów ubocznych związanych z użyciem antybiotyków, jak i chemioterapeutyków na zdrowe tkanki. Pomimo, iż wiele związków mogących spełniać to kryterium zostało już opisane w literaturze, niestety żaden z nich nie przekroczył etapu „*proof of concept*”. Ostatnia sekcja wstępu traktuje o pozostałych wyzwaniach i przydatności badań opisanych w tej pracy do ich rozwiązania.

W rozdziale drugim został opisany protokół łatwego otrzymywania grup fotozabezpieczających dla amin opartych na ugrupowaniu BODIPY. Związki te zostały zaprojektowane jako narzędzia do dalszego rozwoju syntezy fotoczułych leków oraz dróg ich otrzymywania, a także stanowią podstawę, na bazie której przeprowadzona została reszta badań opisanych w tej pracy. Otrzymane związki, zawierające ugrupowanie karbaminianowe pomiędzy chromoforem, a modelowymi aminami zostały naświetlone zielonym światłem ( $\lambda_{\max} = 520$  nm). Opisany został również proces ich fotoodbezpieczania w środowisku wodnym. Okazało się, że wspomniane grupy fotozabezpieczające mogły zostać usunięte w przeciągu 10 minut od początku naświetlania prowadząc do powstania pożądaných amin. Nie zauważono żadnej znaczącej degradacji opisywanych związków podczas przechowywania ich bez dostępu światła przez 24 godziny.

Rozdział 3 jest kontynuacją rozdziału 2. Otrzymane związki są analogiczną serią grup fotozabezpieczających, bazujących na ugrupowaniu BODIPY do zabezpieczania amin, które mogą być odbezpieczane światłem czerwonym, wchodzącym w zakres tzw. „okna terapeutycznego” ( $\lambda_{\max} = 650$  nm). Badania nad procesem fotoodbezpieczania po raz kolejny wykazały szybkie i przebiegające bez

powstawania produktów ubocznych reakcje zabezpieczonych amin ze światłem widzialnym oraz brak znaczącej degradacji w środowisku wodnym przed 24 godziny przechowywania bez dostępu światła. Najbardziej „obietująca” spośród otrzymanych grupa zabezpieczająca została użyta do zabezpieczenia dopaminy, neurotransmitera i leku nasercowego. Badania biologiczne nad tym związkami są prowadzone przez grupę prof. Petera van der Meer (UMCG).

W rozdziale 4 opisane zostały próby wykorzystania reakcji multikomponentowych (MCR) do syntezy związków zabezpieczonych grupami fotozabezpieczającymi BODIPY. Celem badań zawartych w tym rozdziale była rozszerzenie zasosowań protokołu syntezy tego typu związków, ułatwiając budowanie bibliotek w celu uniknięcia wykonywania dodatkowej optymalizacji dla każdego z substratów z osobna, jak to miało miejsce w rozdziałach 2 i 3. Wybrana MCR, reakcja Passeriniego, pozwala na otrzymanie pożądaných związków ze średnimi lub dobrymi wydajnościami (<40%). Badania indukowanego światłem odbezpieczania (uwolnienia) transportowanego leku (tzw. *cargo*) związanego z nośnikiem podczas MCR wykazały, że czasy potrzebne do pełnego odbezpieczania są stosunkowo długie (godzina lub dłużej). Badania te pokazują, że zgodnie z przewidywaniami, MCR są potężnym narzędziem do budowania bibliotek związków zabezpieczonych grupami fotozabezpieczającymi, ale dobór odpowiednich substratów jest problemem, który wymaga przeprowadzenia dalszych badań, zanim opisywana metoda będzie w pełni użyteczna.

Rozdział 5 zawiera praktyczne przykłady użyteczności grup fotozabezpieczających do przeciwdziałania oporności bakteryjnej oraz skutkom ubocznym chemioterapii. W pierwszej części rozdziału opisane są przeprowadzone przez nas próby otrzymania fotoodbezpieczalnych pochodnych Mitomycyny C, znanego chemioterapeutyku i antybiotyku. Mimo, iż synteza pożądaných związków została zwieńczona sukcesem, ich naświetlanie (światłem o  $\lambda_{\max} = 365, 523$  lub  $650$  nm) nie powodowało uwalniania aktywnej formy leku. W drugiej części rozdziału opisane są nasze próby otrzymania dwóch fotoodbezpieczalnych pochodnych Neomycyny B oraz badania właściwości fotochemicznych jednej z nich (Neomycyny B zabezpieczonej grupą *ortho*-nitrobenzylową). Wyniki wstępne świadczą o zachowanej aktywności leku przeciw bakteriom *E. Coli* po fotoodbezpieczeniu tego związku, niestety częściowa aktywność została zaobserwowana także dla jego

zabezpieczonej formy. Mieliśmy nadzieję rozwiązać ten problem poprzez przygotowanie analogicznej pochodnej Neomycyny B zabezpieczonej ugrupowaniem BODIPY, jednak synteza ta zakończyła się niepowodzeniem z powodu degradacji materiału. W celu rozwiązania tego problemu konieczne są dalsze badania.

Rozdział 6 skoncentrowany jest na trzeciej kategorii związków aktywowanych światłem – sondach fluorescencyjnych. Celem tych badań było otrzymanie sondy bazującej na ugrupowaniu BODIPY do wizualizacji i kwantyfikowania stresu oksydacyjnego w komórkach. W rozdziale opisano otrzymywanie ligandów dla nanocząstek złota z wbudowanym fluoroforem połączonym z ugrupowaniami fenolowymi/katecholowymi jako sensorami reaktywnych form tlenu (ROS). Otrzymane związki, styrylowe pochodne BODIPY zawierające wolne lub zabezpieczone grupy OH zostały poddane badaniom UV-Vis oraz elektrodą Clarka w celu opisanie ich właściwości jako potencjalnych sond do wykrywania ROS. Drastyczne zmiany obserwowane w widmach absorpcyjnych otrzymanych związków w obecności wybranych ROS w modelowym układzie micelarnym powodują, że związki te mogą być zastosowane jako pułapki rodnikowe dla rodników peroksydowych.

## Table of Abbreviations

Abbreviation	Full name
A	Acceptor
AcCN	Acetonitril
APF	2-[6-(4V-amino)phenoxy-3H-xanthen-3-on-9-yl] benzoic acid
BODIPY	Boron-dipyrromethene
CpG	Cytosine - phosphate - Guanine sequence
D	Donor
DCC	N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide
DCF	2,7-dichlorofluorescein
DCFDA	2,7-dichlorofluorescein diacetate
DCFH	2,7-dichlorodihydrofluorescein
DCM	Dichloromethane
DIPEA	N,N-Diisopropylethylamine
DMAP	4-Dimethylaminopyridine
DMF	Dimethylformamide
DMP	Dess–Martin periodinane
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DNA	Deoxyribonucleic acid
E. Coli	Escherichia coli
E/Z	Eingegen/Zusammen Isomerization
EDCI	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide
EPR	Electron paramagnetic resonance
equiv.	Equivalent
ESHT	excited state hydrogen transfer
ESI	Electrospray ionization
ESR	electron spin resonance
EtOAc	Ethyl acetate
EtOH	Ethanol
FCC	Flash Column Chromatography
FDA	Food and Drug Administration
FP	Fluorescent Probe
GABA	Gamma-Aminobutyric acid
GPCR	G protein-coupled receptors
HDAC	Histone deacetylase

<b>Abbreviation</b>	<b>Full name</b>
<b>HIPEC</b>	Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy
<b>HOBt</b>	Hydroxybenzotriazole
<b>HOMO</b>	highest occupied molecular orbital
<b>HPLC</b>	High-performance liquid chromatography
<b>HRMS</b>	High-resolution mass spectrometry
<b>IC</b>	Intersystem crossing
<b>IC50</b>	Half maximal inhibitory concentration
<b>IR</b>	Infra Red
<b>IV</b>	Intravenous therapy
<b>LCMS</b>	Liquid chromatography–mass spectrometry
<b>LDA</b>	Lithium diisopropylamide
<b>LED</b>	Light-emitting diode
<b>LTQ</b>	Linear Trap Quadrupole
<b>LUMO</b>	Lowest unoccupied molecular orbital
<b>MCR</b>	Multicomponent Reactions
<b>MeOH</b>	Methanol
<b>MRI</b>	Magnetic resonance imaging
<b>NADPH</b>	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
<b>NBS</b>	N-Bromosuccinimide
<b>n-BuLi</b>	n-Butyllithium
<b>NCS</b>	N-Chlorosuccinimide
<b>NIR</b>	Near Infrared
<b>NIS</b>	N-Iodosuccinimide
<b>NMR</b>	Nuclear magnetic resonance
<b>NOX</b>	NADPH oxidases
<b>NP</b>	Nanoparticles
<b>OBn</b>	Benzyloxy Group
<b>OMe</b>	Methoxy Group
<b>PDT</b>	Photodynamic Therapy
<b>PeT</b>	Electron-proton transfer
<b>PPG</b>	Photoprotecting Group
<b>PS</b>	Photosensitizer
<b>RNA</b>	Ribonucleic acid
<b>ROS</b>	Reactive Oxygen Species

<b>Abbreviation</b>	<b>Full name</b>
<b>SAHA</b>	N-Hydroxy-N'-phenyloctanediamide
<b>SAR</b>	Structure to Activity Relationship
<b>SOD</b>	Superoxide dismutase
<b>t-BuLi</b>	t-Butyllithium
<b>TEA</b>	Triethylamine
<b>THF</b>	Tetrahydrofuran
<b>TRPV1</b>	transient receptor potential cation channel subfamily V member 1
<b>UPLC</b>	Ultra-performance liquid chromatography
<b>UV</b>	Ultra Violet
<b>Vis</b>	Visible

## **Author Contributions**

As the work presented in this thesis was pursued in collaboration with several people, this section details the contributions of each person for clarities sake.

### ***Supervision:***

Chapter 1-5: Prof. B- L- Feringa and Prof. W.C. Szymański

Chapter 6: Prof. G. Litwinienko

### ***Contributions:***

#### ***Chapter 1:***

Kaja Sitkowska

#### ***Chapter 2:***

Kaja Sitkowska

#### **Chapter 3:**

Kaja Sitkowska

#### **Chapter 4:**

Kaja Sitkowska: Design and Synthesis (Optimisation and part of scope), Photochemical measurements (Part), compound characterisations (Part).

Friederieke Reessing: Synthesis (Part of scope), photochemical measurements (Part), LCMS, compound characterisations (Part).

#### **Chapter 5: (Mitomycin)**

Kaja Sitkowska

#### **Chapter 5: (Neomycin)**

Kaja Sitkowska: Synthesis of PPG's, photochemical measurements.

Eliza Warszawik: Sugar synthesis, MIC measurements.

### **Chapter 6:**

Kaja Sitkowska: Concept, design, synthesis and compound characterization.

Anna Zep: Part of characterization, UV-Vis measurements.

Kamila Pruszkowska: Part of characterization, UV-Vis measurements.

Adrian Konopko: Clark electrode measurements,

Jarosław Kusio: UV-Vis in micelles

### **Manuscript Writing:**

Kaja Sitkowska

### **Manuscript Proofreading and Editing:**

Kaja Sitkowska

Prof. B. L. Feringa

Prof. W.C. Szymański

Dr. J.-B. Gualtierotti

Prof. G. Litwinienko



## Acknowledgments

IT.IS.DONE.

Throughout the years of my PhD, this moment was so abstract that at some point I stopped believing it would ever come. But here it is and here am I, finished with my thesis.

Although my book might just look like a wild jumble of pages on which are sprawled some weird scientific endeavors, it is also a diary from an awesome adventure. And here, on its last pages, I would like to thank the main characters of this story, all the amazing people I had the honor to meet and who greatly helped me to develop both my scientific skills and myself as a person.

First of all, Ben. Dear Ben, I have no clue how one can owe so much to one person. Not only you made my PhD possible by offering me a (somewhat unconventional) position and you were a great help through my time in your group but you also introduced me to the most amazing place in the world, Groningen. And, if that was not enough, it is in your group that I found my precious boyfriend Jean-Baptiste. Who could ask for more? For all of this I thank you from the bottom of my heart.

Dear Boss (prof. Litwinienko). Thank you for taking me under your wing in my darkest times and enabling me to recover in your group. Without your help, I would have left science a long time ago. Thank you also for giving me hopes that Poland's system for higher education can change. That it's perverted philosophy consisting more of praying to higher ranks than to developing thoughts and ideas, is slowly going to fade. Maybe one day students will stop running away from the university because of it.

Wiktor! Even if we disagreed on most things (music being an exception), you were the closest I ever had to a father. Thank you for all the things you taught me; not only the scientific ones but also about personal values and how to fight for what I find just, even if it is a lost fight. I wish you all the best in your own life. I do know however that whatever happens, you will manage. PS: I still do not believe in the usefulness of melting points.

Krzysztof, without you, I would have never found my way here. It was you who first noticed my skills (though back then I believed it was mostly about Mikołaj) and who asked me to become your student. It was under your supervision that I became to love synthesis and photochemistry. I mean life is much better if you can hit something with a laser and call it science, no? Thank you for your contagious enthusiasm (especially when singing and dancing in the lab) and the faith you put in me.

Tineke. I am fairly sure that if more people were as kind and competent as you are, the world would be a better place. As many wrote before me: you are the true mother of the group and the one who holds it together. Without you, we would all have been lost a long time ago. Thank you for taking care for each and every one of us and for your never ending enthusiasm. And for the world domination plans, I do think you would actually make it a better place were you to conquer it.

Wesley, although it took me some time to understand your efforts in maintaining order at the university, I think I finally get it. Thank you for keeping us in check and sharing your knowledge. I think every university would benefit from having somebody like you.

Theodora, Pieter and Monique. Thank you for your patience with me and my never ending questions (and samples). Your assistance and knowledge greatly helped the making of this thesis.

I would like to also thank the reading committee (Prof. P. H. Elsinga, Prof. M. D. Witte, Prof. A. J. Minnaard and Prof. M. K. Cyrański) for taking the time to evaluate the thesis and for their valuable insights on it.

And for my dear Paranympths:

Ilse! Who would have thought that playing Pokemon together can result in such a friendship? Thank you for all the cold evenings spend in Noorderplantsoen looking for them bulbasuren and all the great raids together! Teaching next to you was also an honour. I did learn a lot about chemistry and handling students from you. Thank you for always being there and all the fun times.

Erik! You are the perfect Borrel partner (not counting the one with the special master student). But if that was all to you, I would not have picked you as my Paranymp, nor a friend. You have proven to be a true friend countless times. And I owe you, Man. For all the little kicks you have given Jean, which led to us being together. And for awakening my love for bad music of course! I hope you will visit us when the street light of Amelo loses its entertainment value.

Thank you both for helping me out during these stressful days.

Next, I would like to thank the best friends I had the luck to make during my life:

Anna (B., pseudonym Bartosiewicz)! It has been already nearly 24 years since Saba the Dog decided to drag you along to meet me. This (rather strange) event has sparked the strongest friendship I have ever been a part of. Thank you for being there for me all this years, despite my stupid ideas and strange teenage problems. For all the crazy adventures we had (and hopefully will be having in the future) together! I want you to know that I am deeply honored to have you as my friend.

Marielena! That evening we met at the pub quiz I never thought we could become friends that easily. Yet, after maybe just a week, we formed a bond which would make my life much more interesting and filled with laughter and happiness. Thank you for all the girly talks, meetings in the News Café, shopping and your constant smile! I hope your life will be filled with all the sunshine you love so much.

Dušan! The moment I saw you, I knew we would be bros. I have no clue what kind of special skill do you have, but it seems disliking you is not an option. And quite rightfully so! You are the most honest and supportive person I have ever met. I thank you for all the memories we share: from those when I was crying on your shoulder to the ones of us wrestling in Albert Hejin when I was trying to (forcefully) stop you from buying all their ice cream. Thank you for being a true friend.

Then I would like to thank the rest of the bio subgroup, with whom I had the pleasure to work: Michi, for your great help in chemistry and trying to make me understand how Switzerland works (and oh boy, how different it is than Poland and the Netherlands); Friederike, for proving that German girls can be beautiful, knowledgeable and nice; Hansel, for your honesty and jokes; Mark, for the best

music taste in the lab; Piermichelle, for being able to always spark a smile in others, no matter how troubled they seem to be; Jana, for being always so optimistic and innocent; Verena, for showing me the true spirit of never giving up; Claudia, for the teachings on the world of motors and Wim, for the strangest present I ever got and unique advices on bike traffic.

I cannot also forget about the prof. Litwinienko's group in Poland, where I spend the most time of my PhD.

First, of course, Robert. Man, you've been in this lab for so long, you became a part of its furniture. As bad as it sounds, I am happy that it happened, as otherwise I would not have been able to meet you. Thank you for your honesty, great advice on gardening and all the funny evenings we spend drinking wine and complaining together about all manner of things! I hope I managed to make this period of your PhD as enjoyable as you made mine. Thank you!

As for the rest of the magnificent team: Agnieszka, I would like to thank you for always radiating with energy and waking me up in the lab mornings. Artur, thank you for your sense of humor and your vast knowledge concerning all the dark corners of the internet. You did manage to crack my brain a few times. Jakub, thank you for showing me the beauty of the Independence Marsh. Without you, I would have never understood its real face and met all of the amazing people wanting to show the love for our country. And, at last, many thanks to Jarek and Adrian for their enthusiasm and help with my last project. May your PhDs be successful!

Then I would like to thank Anna (Zep) and Kamila. First of all, thank you Anna for being there with me when we had the "głupia baba" problems. Without you I would have probably quit my PhD after two months or so. Thank you both for helping me with my final project. I hope that you will be able to finish your own PhDs soon and be able to follow your own chosen paths with big smiles and lots of love.

As there is more than science in ones PhD, I would like to thank The Village Idiots, without whom I would surely have become (more) insane during these years (or the opposite, still debating on that one): Hugo, Suresh, Shermin, Anne, Nathalie, Brian and Ivan, (+Erik and Jean-Baptiste, who have their own parts of the text).

Thank you for all the nice time we spend together. The grills, gaming nights (especially the game with the plane and drinking xD), borrels and others. You made my life much more colorful and cheerful. I love you all. And let the games continue!

Then I would like to thank my precious students (and great friends): Ewa, I have no clue from where you get all the energy and crazy ideas, but do continue! You are a great person and I wish you all the best in your own life. Thank you for being always so enthusiastic, even when our compound was bubbling away from the flasks. Bianka! You were my first student ever and I must say it was a valuable experience. I hope you learned as much from me as I did from you. I also want to thank you for spending the last few of my nights/weekends in Poland with me, in the labs, during a panicked attempt at resynthesizing my compounds, when it turned out that they were contaminated just before my departure from Poland. The same thought goes to Michał of course, for whom I am also grateful for the same reasons. You guys were a great help!

Marzena! Thank you for bringing a little bit of Polishness to my life in Groningen. I will always remember our common holiday arrangements and pierogis. I was never able to cook better ones afterwards!

Alvin and Yagiz! Thank you for making the atmosphere of the office so friendly! I value greatly our great discussions (even if it was only about the world being a sucky place). Also thank you to you and Spiros for the random coffer moments. I value them greatly.

I would also like to thank the people of The Plutolaan Kingdom, the (positively) crazy student's house I had the pleasure to live in: Sam, Mahya, Jin, Carol, Sophia, Paula, Santosh, Mirko, Filippo, Vania, Hadje and Lorenzo for all the friendly dinners, creepy movies and lovely time together. It was a pleasure to be living with you guys.

My dear family, I am thankful for raising me to become the person I am now. Even if it doesn't seem like, I do appreciate all the hard work you put into trying to make me a decent person. I hope it worked at least partially.

Dear Jean-Baptiste. It still seems crazy to me, that we managed to grasp this minimal chance of meeting each other so far away from our homes and fall in love. One thing is certain. You are the best thing which ever happened to me. I feel privileged to be able to spend my life with you. Thank you for being the person you are!

Great City of Groningen! Thank you for changing my life! In a short time I spend within your borders, I was able to find friends, love and a home. I hope you never change and are able to offer the same treatment to the many who will come to you like I once did.

Er gaat niets boven Groningen!

