



GÖTEBORGS UNIVERSITET

**Design and development of bioresponsive
pseudoglucosinolates, non-cytotoxic coumarins
with antibiofilm properties and studies towards
the synthesis of [13]cytochalasans**

Aishi Chakrabarti

Institutionen för kemi och molekylärbiologi
Naturvetenskapliga fakulteten

Akademisk avhandling för filosofie doktorsexamen i Kemi, som med tillstånd från
Naturvetenskapliga fakulteten kommer att offentligt försvaras tisdagen den 14,
January, 2025 kl. 09:15 i 3401 Korallrevet, Institutionen för kemi och
molekylärbiologi, Medicinaregatan 7B, Göteborg.



GÖTEBORGS UNIVERSITET

ISBN: 978-91-8115-032-2 (PRINT)

ISBN: 978-91-8115-033-9 (PDF)

Svensk summering

Huvudsyftet med denna avhandling var utvecklingen av multifunktionella *pseudoglukosinolater* (*psGSL*) och artificiella multivalenta glukosinolater (*mv-GSL*) som prodrugs för frisättning av isotiocyanater (ITC). Dessa användes som verktyg för avbildning, enzymerkning och kontrollerad läkemedelsleverans. Utöver detta behandlade arbetet också utvecklingen av 6,7-dihydroxykumarin som icke-cytotoxiska antibiofilmbildande ämnen. Slutligen genomfördes studier mot totalsyntes av [13]cytochalasaner (chaetoglobosin B och D).

Det första kapitlet fokuserade på att undersöka och utöka användningen av glukosinolat (*GSL*)-inspirerade föreningar för olika biokemiska och terapeutiska tillämpningar. Det första projektet inom detta kapitel innefattade utvecklingen av enzymresponsiva pseudoglukosinolater (*psGSL*) som prodrugs för kontrollerad frisättning av isotiocyanater (ITC). Genom att inkorporera nitroreduktas (NTR)- och azoreduktas (AzoR)-responsiva skyddsgrupper samt en polyetylen glykolkedja (PEG) förbättrades lösligheten och funktionaliteten hos proverna. Vidare möjliggjorde påkoppling av fluorescerande grupper avbildning av enzymaktivering. *psGSL* framställdes via flerstegssyntes och visade framgångsrik frisättning av ITC vid enzymatisk klyvning, vilket bekräftades genom LC-MS och SDS-PAGE-analys. Validering av systemet i modelldjuret *C. elegans* underströk ytterligare föreningarnas förmåga att binda kovalent. Dessa resultat visar potentialen hos *psGSL* som flexibla verktyg för avbildning och enzymberoende märkning av biomolekyler.

Det andra projektet inom kapitlet undersöktes design och syntes av *psGSL*-baserade antimikrobiella prodrugs för kontrollerad läkemedelsfrisättning vid enzymatisk aktivering. Antibiotika kopplades till *psGSL*s tiohydroximat-enhet via karbamater, där *O*-sulfonatgruppen ersattes. LC-MS-analys visade frisättning av antibiotika vid aktivering av de antimikrobiella prodrugs av nitroreduktas (NTR). Även om omvandlingarna var långsamma och ofullständiga, gavs ett principbevis för aktivitet hos dessa prover. Fotoklyvbara *psGSL* utvecklades också för att kringgå enzyminkompatibilitet genom att inkludera *o*-nitrobensylgrupper för UV-aktiverad läkemedelsfrisättning vid 365 nm. Dessutom möjliggjorde azidgrupper i *psGSL*-strukturen koppling av fluoroforer eller immobilisering på ytor, med potentiella tillämpningar som avbildningsreagenser eller antimikrobiella beläggningar.

Det tredje projektet i kapitlet introducerade de första artificiella multivalenta glukosinolatföreningarna (*mv-GSL*). Dessa föreningar innehåller fler än en glykosidisk tiohydroximat-*O*-sulfonatgrupp, vilket potentiellt förstärker bioaktiviteten jämfört med naturliga monovalenta föregångare. Multistegssyntes och biokemisk utvärdering av *mv-GSL* med alifatiska och aromatiska kärnor genomfördes. Myrosinas från *Sinapis alba* frisatte effektivt multivalenta isotiocyanater (*mv-ITC*) för utvalda substrat, medan specifikationsprotein AtNSP3 endast delvis omvandlade dem till nitriler. Vidare optimering av strukturerna och utveckling av ett större panel av föreningar skulle kunna förbättra omvandlingseffektiviteten med myrosinas.



GÖTEBORGS UNIVERSITET

Det andra kapitlet fokuserade på syntes och biologisk utvärdering av nya 6,7-dihydroxykumarin-5-karboxylater (**DHCou** och **4-MeDHCou**) som icke-cytotoxiska antibiofilmbildande ämnen. Det andra kapitlet fokuserade på syntes och biologisk utvärdering av nya 6,7-dihydroxykumarin-5-karboxylater (**DHCou** och **4-MeDHCou**) som icke-cytotoxiska antibiofilmbildande ämnen. Dessa föreningar syntetiserades via en flerstegsmetod med en total utbytte på 11 % respektive 8 %. Biologisk utvärdering visade att aktiviteten för biofilms hämning bibehölls signifikant, där **4-MeDHCou** visade effekt mot *Staphylococcus aureus* och *Candida albicans*, medan **DHCou** selektivt hämmade biofilmer av *Candida albicans*. Viktigt är att båda derivaten inte visade någon cytotoxicitet mot däggdjurscellinjer, till skillnad från deras moderssubstanser, esculetin (**II-2**) och 4-metyleskuletin (**II-29**). Införandet av en karboxylatgrupp på C5-positionen resulterade framgångsrikt i föreningar med minskad cytotoxicitet och bibehållen biofilmsaktivitet. Dessa resultat utgör en grund för vidare utforskning av dihydroxykumarin-derivat som antibiofilmbildande ämnen, med potentiella tillämpningar för att utveckla artificiella sideroforer eller antimikrobiella läkemedelskonjugat.

Det tredje kapitlet fokuserade på studier mot totalsyntes av [13]cytochalasanerna chaetoglobosin B och D. Ansträngningarna för totalsyntes av chaetoglobosin D koncentrerades på konstruktionen av dess isoindolon-kärna (**III-148**) och dess makrocycliska fragment (**III-149**). Initiala strategier stötte på betydande utmaningar, inklusive misslyckade försök att bilda Wittig-saltet (**III-145**) under konstruktionen av det makrocycliska fragmentet samt nedbrytning av intermediärer (**III-122**, **III-128a**, **III-128b**) under *Diels-Alder* reaktioner för att skapa isoindolon-kärnan. Dessa hinder gjorde det nödvändigt att skifta fokus till syntes av chaetoglobosin B genom en reviderad strategi. Huvudföreningarna dien **III-163** och dienofil **III-171**, syntetiserades via flerstegssyntes. Detta gjordes trots låga utbyten och problem med produktselektivitet, såsom oskiljbara E:Z-isomerblandningar, och materialförlust under förberedelse av intermediet.

Trots att sammansättningen av isoindolon-kärnan (**III-173**) och det makrocycliska fragmentet (**III-180**) inte slutfördes, föreslogs en ny syntesväg som inkluderade intramolekylära *Diels-Alder* reaktioner och optimerade strategier för koppling och skydd av intermediärer. Framtida insatser kan förbättra dessa syntesvägar, öka utbytena och möjliggöra totalsyntes av chaetoglobosin B och relaterade föreningar. Detta arbete lägger grunden för att avancera syntesmetoder för komplexa naturprodukter.