



Doctoral Thesis

Investigating the Chemistry and Biology of Danicalipin A and its Analogs

Author(s):

Boshkow, Johannes

Publication Date:

2017

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-b-000210374> →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH Nr. 24424

Investigating the Chemistry and Biology of Danicalipin A and its Analogs

A thesis submitted to attain the degree

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

JOHANNES BOSHKOW

Master of Science Chemistry ETH Zurich

born 11.04.1989

citizen of Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Erick M. Carreira, examiner

Prof. Dr. Antonio Togni, co-examiner

2017

Abstract

Chlorosulfolipids constitute an intriguing class of natural products, which have been isolated globally from freshwater microalgae and their consumers. Since initial reports on members of this family in the 1960's, they have sparked interest in the isolation and biochemical literature. Synthetic chemists joined the research on these compounds following stereochemical elucidation more than a decade ago. In particular danicalipin A (**I**) has been the topic of extensive discussion (Figure I). Yet, despite being the major polar component in the membrane of the golden-brown algae *Ochromonas danica*, the biological function of **I** remains unclear to date.

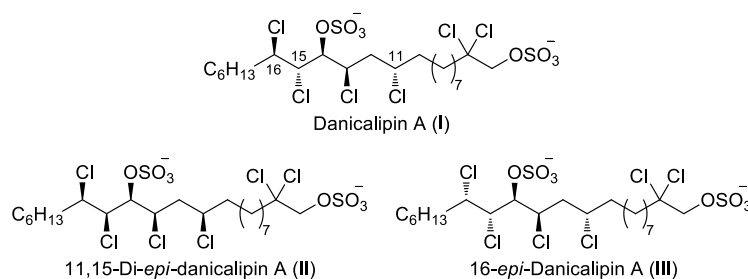


Figure I Structures of natural danicalipin A (**I**), and of unnatural diastereomers 11,15-di-*epi*-danicalipin A (**II**) and 16-*epi*-danicalipin A (**III**).

The first part of this thesis discusses the configurational and conformational effects in the complex chlorination pattern of danicalipin A (**I**) which was enabled by the synthesis of two diastereomers, 11,15-di-*epi*-danicalipin A (**II**) and 16-*epi*-danicalipin A (**III**) (Figure I). The selection of these targets was supported by a database/molecular modeling and MCOMM/DFT approach which predicted distinct conformations different from that of **I**. The synthesis of 11,15-di-*epi*-danicalipin A (**II**) was completed in 16 steps (12 steps longest linear sequence) and 3% overall yield, following a route comprised of enantioselective epoxidation, SHARPLESS' asymmetric dihydroxylation, epoxide openings, BROWN allylation, and cross-metathesis.

Biological investigations and comparison between the three diastereomers provided valuable insight into functions of the chlorinated array. Strikingly, diastereomers **I**, **II**, and **III** exhibited markedly different membrane permeability enhancement in bacteria and mammalian cells. These findings could not be fully explained by differences in configuration and conformation, therefore prompting us to take flexibility and molecular shape into account as well. MCOMM/DFT analysis

unearthed the high conformational stability of the singly-kinked structure of **I**, and allowed speculation about beneficial effects it may impart on fluidity and motility in *O. danica*. Furthermore, the same analysis attested **II** a higher flexibility and ill-defined molecular shape, as well as a singly-kinked, but flexible structure for **III**. These results correlated with biological activity, suggesting that the rigid, singly-kinked molecular structure of **I** was crucial for membrane behavior.

The second part of this thesis discloses contributions to a project aimed at uncovering the effects of varying degrees of chlorination in danicalipin A (**I**) and its analogs. To this end, the synthesis of chlorinated docosanedisulfates (DDS) **IV** and **V** were completed (Figure II). The synthesis of trichloro-DDS (**IV**) involved enantioselective α -chlorination, diastereoselective chloroallylation, BROWN allylation and cross-metathesis, culminating in the natural product after 11 steps (10 steps longest linear sequence) and 4% overall yield. Heptachloro-DDS (**V**) was accessed in 4 steps from known intermediates in 35% overall yield through cross-metathesis and dichlorination.

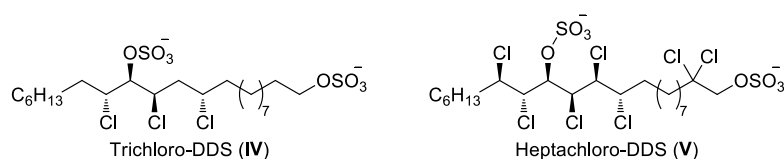
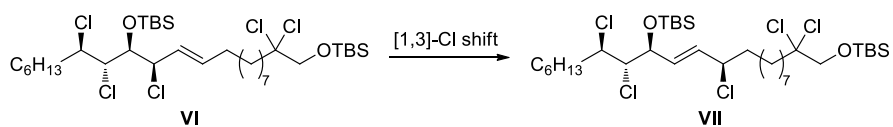


Figure II Structures of naturally-occurring trichloro-DDS (**IV**) and unnatural heptachloro-DDS (**V**).

The biological activities of **IV**, **V**, and other partially chlorinated analogs of danicalipin A (**I**) illustrated the advantages of the specific chlorination pattern in **I**. In cytotoxicity and membrane permeability enhancement assays, **I** demonstrated the most pronounced biological impact suggesting an intricate net of influences in the chlorination pattern. Unaccountable solely through molecular shape and flexibility arguments, these effects entailed conjecture of the superiority of **I** during competitive evolution.

The final part of this thesis covers the work based on an observation made during the synthesis of heptachloro-DDS (**V**). The allylic chlorine substituent in intermediate **VI** underwent [1,3]-allylic rearrangement, representing a rare example of a sigmatropic reaction involving a chlorine atom (Scheme I).



Scheme I Observed [1,3]-sigmatropic rearrangement of the allylic chlorine substituent in **VI**.

Further studies and extension of the methodology to other substrates established that the thermal reaction required polar medium as well as specific stereoelectronic prerequisites of the substrate. The driving force of this reaction is of an enthalpic nature with contributions from increased polarity and decreased steric hindrance of the product. The observations corroborated the hypothesis that the suprafacial shift proceeded through a polar transition state, reminiscent of a tight ion pair between an allyl cation and a chloride ion, and does not follow the WOODWARD–HOFFMANN rules but rather is under complementary subjacent-orbital control.

Zusammenfassung

Chlorosulfolipide stellen eine faszinierende Naturstoffklasse dar, welche weltweit aus Süßwassermikroalgen und deren Verzehrern isoliert wurde. Seit den ersten Berichten über Mitglieder dieser Familie in den 1960er Jahren weckten sie das Interesse in der Isolations- und biochemischen Literatur. Vor über einem Jahrzehnt begannen sich auch synthetische Chemiker an der Erforschung dieser Moleküle zu beteiligen, nachdem die Stereochemie aufgeklärt worden war. Insbesondere Danicalipin A (**I**) wurde ausgiebig diskutiert, da es den Hauptanteil der polaren Komponenten in der Membran der goldbraunen Alge *Ochromonas danica* bildet (Abbildung I). Trotzdem konnte die biologische Funktion bis heute nicht geklärt werden.

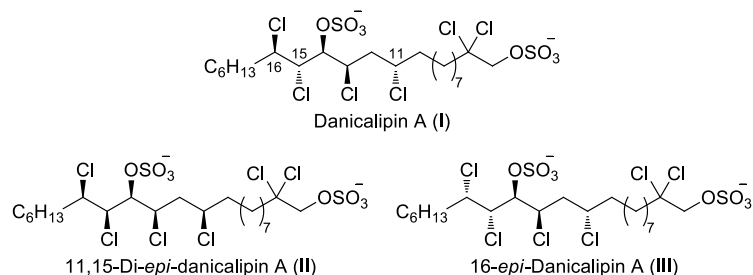


Abbildung I Struktur von natürlichem Danicalipin A (**I**) und den unnatürlichen Diastereomeren 11,15-Di-*epi*-danicalipin A (**II**) und 16-*epi*-Danicalipin A (**III**).

Im ersten Teil dieser Arbeit werden die Einflüsse von Konfiguration und Konformation im komplexen Chlorierungsmuster von Danicalipin A (**I**) behandelt. Diese Studie ist durch die Synthese zweier Diastereomere ermöglicht worden, 11,15-Di-*epi*-danicalipin A (**II**) und 16-*epi*-Danicalipin A (**III**) (Abbildung I). Die Auswahl dieser Zielmoleküle ist anhand eines Vorgehens getroffen worden, welches die Analyse aus Datenbanken und Molekularmodellierung mit MCOMM und DFT Berechnungen kombinierte. Anhand dieses Ansatzes sind spezifische Konformationen für **II** und **III** prognostiziert worden, welche sich von **I** unterscheiden haben. Das synthetische Material, 11,15-Di-*epi*-danicalipin A (**II**), ist mit Hilfe von enantioselektiver Epoxidierung, SHARPLESS' asymmetrischer Dihydroxylierung, Epoxidöffnungen, BROWN Allylierung und Kreuzmetathese erhalten worden. Die Route ist in 16 Stufen (12 Stufen in der längsten linearen Sequenz) beendet worden, wobei die Gesamtausbeute 3% betrug.

Biologische Untersuchungen und der Vergleich der drei Diastereomere lieferten einen wertvollen Einblick in die Funktionen der chlorierten Domäne. Besonders markant war die unterschiedliche Membranpermeabilitätserhöhung durch **I**, **II** und **III** in Bakterien- und Säugetierzellen. Da diese Unterschiede nicht vollständig durch Unterschiede der Konfiguration und Konformation erklärt werden konnten, mussten zusätzlich noch die Flexibilität und Molekulargestalt berücksichtigt werden. MCMM und DFT Analysen ergaben eine hohe Konformationsstabilität der einfach gebeugten Struktur von **I** und erlaubten die Spekulation über die Vorteile dieser Eigenschaft auf die Fluidität und Motilität für *O. danica*. Außerdem bescheinigte dieselbe Analyse **II** eine höhere Flexibilität und unklare Molekulargestalt, während **III** eine einfach gebeugte aber flexible Molekulargestalt aufwies. Diese Erkenntnisse stimmten mit den biologischen Ergebnissen überein und wiesen darauf hin, dass die starre, einfach gebeugte Molekulargestalt von **I** für das Membranverhalten entscheidend war.

Der nachfolgende Teil dieser Arbeit war ein Beitrag zu einem Projekt, welches darauf abzielte, die Effekte variierender Chlorierungsgrade in Danicalipin A (**I**) und dessen Analoga zu bestimmen. Dazu wurden die Synthesen der beiden chlorierten Docosandisulfate (DDS) **IV** und **V** durchgeführt (Abbildung II). Die Synthese von Trichloro-DDS (**IV**) beinhaltete enantioselektive α -Chlorierung, diastereoselektive Chloroallylierung, BROWN Allylierung und Kreuzmetathese, was den Naturstoff in 11 Stufen (10 Stufen in der längsten linearen Sequenz) und 4% Gesamtausbeute ergab. Heptachloro-DDS (**V**) wurde durch Kreuzmetathese und Dichlorierung in 4 Stufen und 35% Gesamtausbeute aus bekannten Stoffen hergestellt.

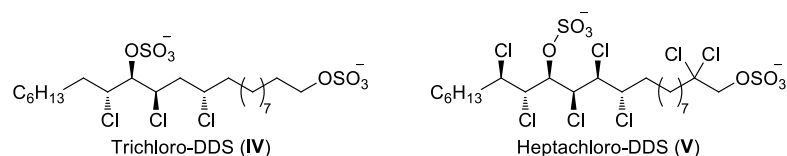
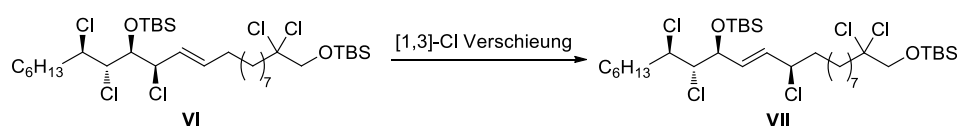


Abbildung II Strukturen des natürlich vorkommenden Trichloro-DDS (**IV**) und unnatürlichen Heptachloro-DDS (**V**).

Die biologischen Aktivitäten von **IV**, **V** und anderen teilchlorierten Analoga von Danicalipin A (**I**) hoben die Vorteile des spezifischen Chlorierungsmusters in **I** hervor. Sowohl die Cytotoxizität als auch die Membranpermeabilitätserhöhung von **I** waren am Höchsten, wodurch sich ein verzweigtes Netz aus verschiedenen Einflüssen

im Chlorierungsmuster andeutete. Diese Effekte gingen über Argumente der Molekulargestalt und Flexibilität hinaus. Aus ihnen ließen sich Schlussfolgerungen zur Überlegenheit von **I** während der kompetitiven Evolution ziehen.

Der letzte Teil dieser Arbeit befasst sich mit einer Entdeckung, welche im Rahmen der Synthese von Heptachloro-DDS (**V**) gemacht worden ist. Der allylische Chlorsubstituent in Zwischenprodukt **VI** hat eine [1,3]-sigmatrope Umlagerung begangen und dadurch ein Beispiel der seltenen, sigmatropen Reaktionen dargestellt, in welchen ein Chloratom beteiligt ist (Schema I).



Schema I Die beobachtete [1,3]-sigmatrope Umlagerung des allylischen Chlorsubstituenten in **VI**.

Durch zusätzliche Studien und die Erweiterung der Methodik auf andere Substrate wurde festgestellt, dass die thermische Reaktion eines polaren Mediums und konkreter stereoelektronischer Anforderungen bedurfte. Des Weiteren wurde die enthalpische Triebkraft der Umlagerung gefunden, zu welcher eine erhöhte Polarität und verringerte sterische Hinderung des Produkts beitragen. Die Beobachtungen bekräftigten die Hypothese, dass die suprafaciale Verschiebung durch einen polaren Übergangszustand verläuft, welcher einem engen Ionenpaar zwischen einem Allylkation und einem Chloridion gleicht, und nicht den Regeln von WOODWARD–HOFFMANN folgt, sondern vielmehr einer alternativen Kontrolle durch energetisch tiefer liegende Orbitale.