



Doctoral Thesis

Synthesis, Properties and Reactivities of Acylboronates in Amide Bond Forming Ligation with Hydroxylamines

Author(s):

Noda, Hidetoshi

Publication Date:

2015

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010403341> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

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

DISS. ETH NO. 22574

**Synthesis, Properties and Reactivities of Acylboronates
in Amide Bond Forming Ligation with Hydroxylamines**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

Hidetoshi Noda

Master of Science in Pharmaceutical Chemistry, The University of Tokyo

Born on 14.04.1982

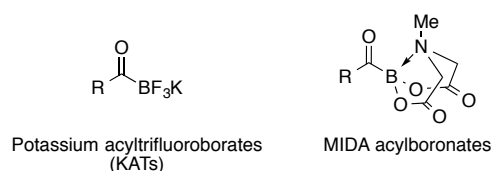
Citizen of Japan

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Jeffrey W. Bode, examiner
Prof. Dr. Christophe Copéret, co-examiner

2015

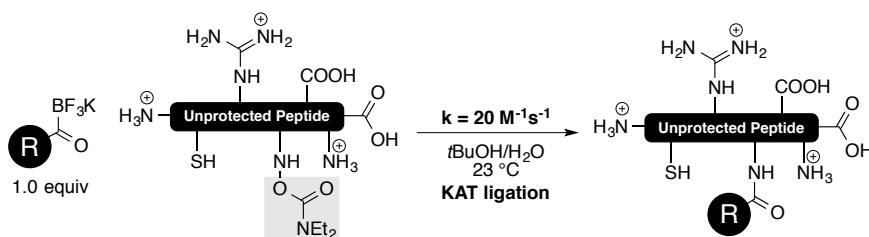
Abstract

Organoborons are an important class of compounds in chemistry. Many important reactions have been developed with these reagents and used extensively in synthetic chemistry. In contrast, acylborons have been considered as unstable constructs and neglected in the development of organoboron chemistry. Only recently certain acylborons have been recognized to be stable and to possess unique properties and reactivities. Among them, potassium acyltrifluoroborates (KATs) and *N*-methyliminodiacetyl (MIDA) acylboronates are bench-stable, readily handled solids that demonstrated utility and remarkable reactivity.

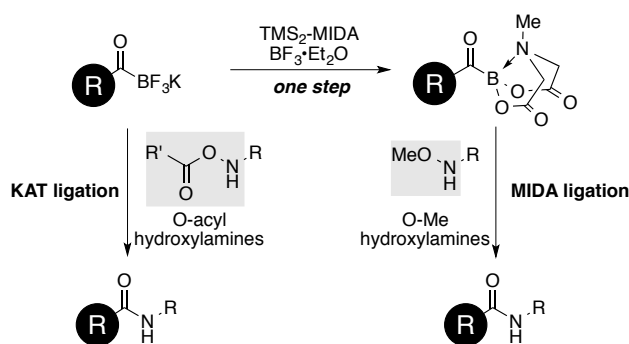


During the course of efforts to find new amide bond forming reactions, the Bode group reported that KATs underwent amide-bond forming reactions with *O*-Bz hydroxylamines in water. The KAT amide formation proceeds much faster than the α -ketoacid-hydroxylamine (KAHA) ligation, which was also developed by the Bode group for the chemical synthesis of proteins. Although the initial study lacked investigation of its chemoselectivity, the promising results of the KAT amide formation encouraged the group to further develop this reaction.

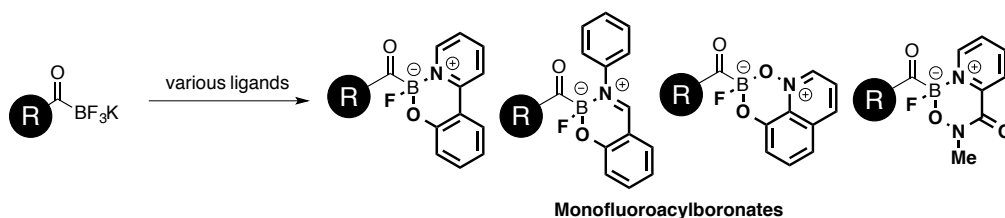
This dissertation begins with a closer examination of the KAT amide formation. The chemoselectivity and fast kinetics of the KAT ligation was established by the identification of reactive and stable hydroxylamines. Combined with the preparation of KATs bearing a molecule of interests, the studies realized applications of the KAT ligation in bioconjugation reactions with an equimolar ratio of reactants.



The unique reactivity of KATs led to investigations of MIDA acylboronates in amide-forming reactions. MIDA acylboronates provide amides with *O*-Me hydroxylamines that do not react with KATs under the identical conditions. MIDA acylboronates possess higher reactivity than KATs towards hydroxylamines, but they are also far less stable in water than KATs. An excess amount of the boronate was required in the ligation with a peptide hydroxylamine. The instability of MIDA acylboronates under the ligation conditions limits their applications in bioconjugation reactions. These examinations also involved the development of a one step synthesis of MIDA acylboronates from the corresponding KATs, which can avoid a lengthy synthetic route previously reported.

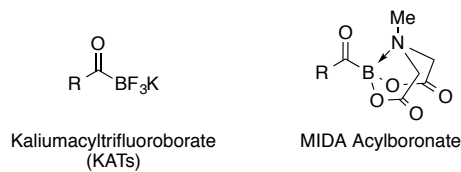


The successful amide forming reactions of MIDA acylboronate indicated that a suitable ligand on the boron atom could modulate stability and reactivity of acylboronates. The newly developed synthesis can facilitate the synthesis of acylboronates and expand the chemical space of acylboronates. A series of novel acylboronates were prepared and evaluated in the amide forming ligations with hydroxylamines. The systematic investigations identified suitable bidentate ligands for fine-tuning the properties and reactivities of monofluoroacylboronates.



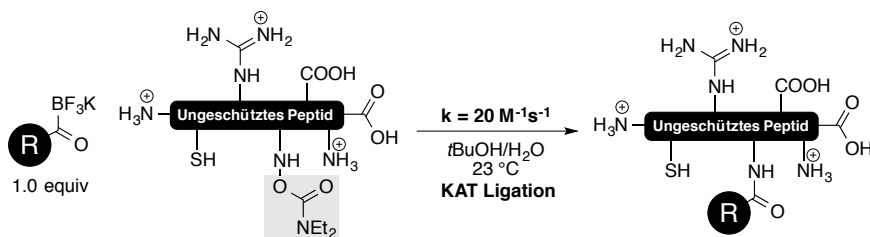
Zusammenfassung

Bororganische Verbindungen sind eine wichtige Verbindungsklasse in der Chemie. Viele bedeutende Reaktionen wurden mit diesen Reagenzien entwickelt und finden breite Anwendung in der synthetischen Chemie. Im Unterschied dazu wurden Acylborate als instabil erachtet und deswegen in der Entwicklung der Organoborchemie vernachlässigt. Erst kürzlich wurden stabile Acylborate identifiziert und ihre einzigartigen Eigenschaften und Reaktivitäten erkannt. Unter diesen sind insbesondere Kaliumacyltrifluoroborate (KAT) und *N*-methyliminodiacetyl (MIDA) Acylboronate hervorzuheben, bei welchen es sich um stabile, einfach zu handhabende Feststoffe mit bemerkenswerter Reaktivität und Nutzen handelt.



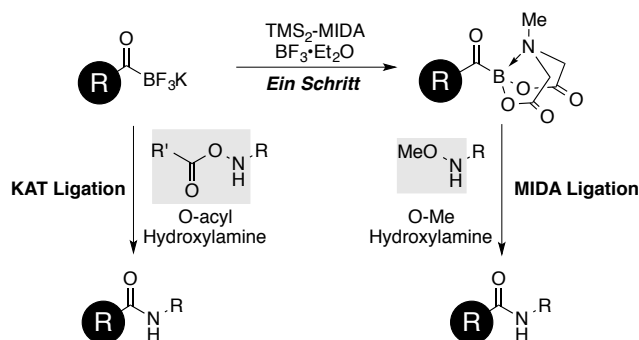
Im Verlauf ihrer Bemühungen eine neue amidbindungsbildende Reaktion zu entwickeln berichtete die Gruppe um Bode, dass KATs mit *O*-Bz Hydroxylaminen in Wasser unter Bildung einer Amidbindung reagieren. Diese KAT-basierte Amidbildung verläuft deutlich schneller als die ebenfalls von Bode zur chemischen Synthese von Proteinen entwickelte α -Ketosäure-Hydroxylamin (KAHA) Ligation. Obwohl diese erste Studie keine Evaluierung der Chemo Selektivität beinhaltete, ermutigten die vielversprechenden Ergebnisse der KAT-basierten Amidbildung die Gruppe um Bode, diese Reaktion weiter zu entwickeln.

Diese Dissertation beginnt mit einer tieferen Untersuchung der KAT-basierten Amidbildung. Um die Chemo Selektivität und schnelle Reaktionskinetik der KAT Ligation zu zeigen, wurden reaktive und stabile Hydroxylamine entwickelt. Weiterhin zeigt diese Studie die Synthese von verschiedenen, mit KAT funktionalisierten Molekülen von Interesse und deren Anwendung in Biokonjugationsreaktionen mit äquimolarem Verhältnis der Reaktanden.



Die einzigartige Reaktivität der KATs initiierte die Untersuchung von MIDA Acylboronaten für amidbindungs bildende Reaktionen. MIDA Acylboronate reagieren unter Bildung von Amid en mit *O*-Me Hydroxylaminen, wohingegen letztere unter diesen Bedingungen inert gegenüber KATs sind. Zwar zeigen MIDA Acylboronate eine höhere Reaktivität gegenüber Hydroxylaminen als KATs, sind jedoch auch wesentlich weniger stabil in wässriger Lösung als diese: für die Ligation mit einem Peptidhydroxylamin wurde beispielsweise ein Überschuss des Boronats benötigt. Die Instabilität der MIDA Acylboronate unter den Ligationsbedingungen limitiert ihre Anwendung in

Biokonjugationsreaktionen. Die Studie beinhaltet auch die Entwicklung einer einstufigen Synthese von MIDA Acylboronaten ausgehend von den entsprechenden KATs und vermeidet die bisherige deutlich längere und mehrstufige Syntheseroute.



Die erfolgreiche amidbindungs bildende Reaktion von MIDA Acylboronaten deutet darauf hin, dass ein geeigneter Ligand am Boratom die Stabilität und Reaktivität des Moleküls modulieren kann. Die neuentwickelte Synthese erleichtert die Darstellung und erweitert den „Chemical Space“ von Acylboronaten. Verschiedene neue Acylboronate wurden hergestellt und ihre Eignung in amidbindungs bildenden Reaktionen mit Hydroxylaminen bewertet. Die systematische Untersuchung erlaubte die Identifizierung von geeigneten bidentaten Liganden um die Eigenschaften und Reaktivität der Monofluoracylboronate zu modulieren und zeigte den Einfluss des Liganden auf die Bildung, Eigenschaften und Reaktivitäten der Acylboronate.

