

Université de Montréal

**Sels d'imidazolium avec des anions catalytiques:  
Vers le développement de nouveaux catalyseurs bio-hybrides  
actifs en milieu liquide ionique**

par

Vincent Gauchot

Département de Chimie

Faculté des Arts et Sciences

Thèse présentée à la Faculté des Études Supérieures  
en vue de l'obtention du grade de Philosophæ Doctor  
en Chimie

Février 2014

© Vincent Gauchot, 2014

## Résumé

Les liquides ioniques connaissent depuis quelques décennies un essor particulier en raison de leurs nombreuses propriétés physico-chimiques intéressantes, telles qu'une faible pression de vapeur saturante, une viscosité limitée, une faible miscibilité avec la plupart des solvants communs, ou encore des propriétés d'agencement supramoléculaire, qui en font des outils puissants dans de nombreux domaines de la chimie. Les sels d'imidazolium représentent la plus grande famille de liquides ioniques à ce jour. Leur modulabilité leur permet d'être dérivés pour de nombreuses applications spécifiques, notamment en synthèse organique, où ils sont utilisés majoritairement comme solvants, et plus récemment comme catalyseurs. Les travaux présentés dans cette thèse se concentrent sur leur utilisation en synthèse organique, à la fois comme solvants et principalement comme catalyseurs chiraux, catalyseurs pour lesquels l'anion du sel est l'espèce catalytique, permettant d'ajouter de la flexibilité et de la mobilité au système. En tirant parti de la tolérance des liquides ioniques envers la majorité des macromolécules naturelles, l'objectif principal des travaux présentés dans cette thèse est le développement d'un nouveau type de catalyseur bio-hybride reposant sur l'encapsulation d'un sel d'imidazolium dans une protéine. Par le biais de la technologie biotine-avidine, l'inclusion supramoléculaire de sels d'imidazolium biotinylés portant des contre-anions catalytiques dans l'avidine a été réalisée et exploitée en catalyse.

Dans un premier temps, le développement et l'étude de deux sels de 1-butyl-3-méthylimidazolium possédant des anions chiraux dérivés de la *trans*-4-hydroxy-L-proline sont rapportés, ainsi que leur comportement dans des réactions énantiosélectives d'aldol et d'addition de Michael. Ces types de composés se sont révélés actifs et performants en milieu liquide ionique.

Dans un second temps, la préparation de sels d'imidazolium dont le cation est biotinylé et portant un contre-anion achiral, a été réalisée. Le comportement de l'avidine en milieu liquide ionique et son apport en termes de chiralité sur le système bio-hybride ont été étudiés. Les résultats montrent le rôle crucial des liquides ioniques sur la conformation de la protéine et l'efficacité du catalyseur pour des réactions d'aldol.

Dans un dernier temps, l'influence de la structure du cation et de l'anion sur le système a été étudiée. Différents espaceurs ont été introduits successivement dans les squelettes cationiques et anioniques des sels d'imidazolium biotinylés. Dans le cas du cation, les résultats ne révèlent aucune influence majeure sur l'efficacité du catalyseur. La structure de l'anion se montre cependant beaucoup plus importante : la préparation de différents catalyseurs bio-hybrides possédant des anions aux propriétés physico-chimiques différentes a permis d'obtenir de plus amples informations sur le mode de fonctionnement du système bio-hybride et de la coopérativité entre l'avidine et l'anion du sel d'imidazolium. La nature ionique de la liaison cation-anion offrant une liberté de mouvement accrue à l'anion dans la protéine, la tolérance à différents substrats a également été abordée après optimisation du système.

**Mots-clés** : Liquides ioniques, sels d'imidazolium, organocatalyse asymétrique, proline, technologie biotine-avidine, complexe supramoléculaire, catalyseur bio-hybride, aldol.

## Abstract

Ionic liquids have gained a growing interest due to many interesting properties, such as low vapor pressure, reasonably low viscosity, poor miscibility with common organic solvents, and also exhibit supramolecular organization in solution, which make them interesting tools for several fields of applications in chemistry. As of today, imidazolium salts make up the largest family of ionic liquids. Their modulability allows them to be used for a wide range of applications, notably in organic chemistry, where they are mainly used as solvents, but also more recently as actual catalysts. The work presented in this thesis focuses on their use as solvents and chiral catalysts, in which the catalytic species is the anion of the imidazolium salts, adding more flexibility and mobility to the whole system. Taking advantage from the tolerance of ionic liquids toward biological macromolecules, the main goal of this work is the design and development of a new type of bio-hybrid catalyst based on the encapsulation of an imidazolium salt inside the cavity of a host protein. Based on the biotin-avidin technology, the supramolecular ligation of biotinylated imidazolium salts inside avidin, bearing catalytic counter-anion, is discussed.

As a first step, the development and studies of two 1-butyl-3-methylimidazolium-based salts, bearing *trans*-4-hydroxy-L-proline-derived anions are reported. Their use for asymmetric catalysis in ionic liquids media is disclosed, both for the aldol and Michael additions. Results show that these compounds are viable and efficient organocatalysts in ionic liquids.

Subsequently, the preparation of biotinylated imidazolium salts, bearing a racemic pyrrolidine-based counter-anion is reported. Avidin behaviour in ionic liquid media, as well as its contribution for the stereocontrol for the whole bio-hybrid system, is assessed. Results highlight the critical role of the ionic liquid reaction medium on the protein's conformation, and thus the efficiency of the bio-hybrid catalyst towards aldol reactions.

Finally, the influence of the structure of the cation and anion on the catalytic properties of the biohybrid system were investigated. Several spacers were inserted successively both in the cation and anion structures of the biotinylated imidazolium salts. Regarding the cation modifications, results show no major influence on the bio-hybrid

catalyst behaviour. However, modifying the anion structure revealed the much more important role of the anion towards catalysis. Preparation of different anions, each bearing a different spacer, granting them different physico-chemical properties, gives rise to further information regarding the behaviour of the bio-hybrid catalyst, and possible cooperativity between avidin and the imidazolium salt.

The ionic character of the interaction between the anion and the cation, allowing a greater freedom of movement of the anion inside the avidin's cavity, and the tolerance of the bio-hybrid system to different substrates were studied.

**Keywords** : Ionic liquids, imidazolium salts, asymmetric organocatalysis, proline, biotin-avidin technology, supramolecular complex, bio-hybrid catalyst, aldol.

# Table des matières

<b>1</b>	<b>Chapitre 1 : Introduction .....</b>	<b>21</b>
<b>1.1</b>	<b>Les liquides ioniques .....</b>	<b>22</b>
1.1.1	Définition .....	22
1.1.2	Les sels d'imidazolium - généralités.....	23
<b>1.2</b>	<b>Les liquides ioniques en synthèse.....</b>	<b>27</b>
1.2.1	Applications des liquides ioniques en tant que solvants .....	27
1.2.1.1	<i>Utilisation en synthèse organique.....</i>	<i>27</i>
1.2.1.2	<i>Utilisation en catalyse organométallique .....</i>	<i>28</i>
1.2.1.3	<i>Les liquides ioniques en biocatalyse.....</i>	<i>29</i>
1.2.1.4	<i>Les liquides ioniques comme solvants chiraux .....</i>	<i>33</i>
1.2.2	Utilisation des liquides ioniques comme ligands .....	34
1.2.2.1	<i>Les sels d'imidazolium comme précurseurs de ligands pour les métaux de transition .....</i>	<i>34</i>
1.2.2.2	<i>Formation de NHC in situ à partir des LIs utilisés comme solvants .....</i>	<i>36</i>
<b>1.3</b>	<b>Les sels d'imidazolium : des liquides ioniques à tâches spécifiques .....</b>	<b>37</b>
1.3.1	Catalyse métallique « supportée » sur liquide ionique.....	38
1.3.1.1	<i>Catalyse en phase liquide-liquide.....</i>	<i>38</i>
1.3.1.2	<i>Catalyse hétérogène.....</i>	<i>39</i>
1.3.2	Les LITS-imidazolium en organocatalyse asymétrique.....	41
1.3.2.1	<i>L'aminocatalyse.....</i>	<i>42</i>
1.3.2.2	<i>Modification du cation des LITS.....</i>	<i>43</i>
1.3.2.3	<i>L'anion comme catalyseur dans les LITSs.....</i>	<i>46</i>
<b>1.4</b>	<b>Les catalyseurs biohybrides et leurs applications en synthèse organique ....</b>	<b>49</b>
1.4.1	Modification covalente des protéines.....	51
1.4.2	Incorporation non-covalente de l'entité catalytique.....	54
1.4.2.1	<i>Incorporation du métal directement dans la protéine.....</i>	<i>55</i>
1.4.2.2	<i>Introduction des complexes métal-ligands dans la protéine.....</i>	<i>56</i>
<b>1.5</b>	<b>Le système biotine-avidine .....</b>	<b>57</b>

1.5.1	Caractéristiques structurales et propriétés de l'avidine.....	57
1.5.2	Le système biotine-avidine pour la conception de catalyseurs biohybrides ....	60
1.5.2.1	<i>Optimisation chimique : influence de la structure du ligand.....</i>	<i>61</i>
1.5.2.2	<i>Optimisation génétique : influence de la géométrie du site actif.....</i>	<i>62</i>
<b>1.6</b>	<b>Description de nos projets de recherche .....</b>	<b>64</b>
1.6.1	Sels d'imidazolium dont l'anion est l'entité catalytique.....	65
1.6.2	Sels d'imidazolium biotinylés.....	66
1.6.2.1	<i>Comportement du catalyseur biohybride en solution .....</i>	<i>66</i>
1.6.2.2	<i>Influence de la structure du cation.....</i>	<i>67</i>
1.6.2.3	<i>Influence de la structure de l'anion .....</i>	<i>67</i>
<b>1.7</b>	<b>Bibliographie .....</b>	<b>68</b>
<b>2</b>	<b>Chapitre 2 : Sels d'imidazolium possédant un anion catalytique: études et applications pour une réaction d'aldol .....</b>	<b>73</b>
2.1	Préface.....	74
2.2	<b>Article 1: Asymmetric aldol reaction catalyzed by the anion of an ionic liquid .....</b>	<b>75</b>
2.2.1	Abstract .....	76
2.2.2	Introduction.....	76
2.2.3	Results and discussion .....	77
2.2.4	Conclusion .....	87
2.2.5	Experimental section.....	87
2.2.5.1	<i>Molecular modeling.....</i>	<i>87</i>
2.2.5.2	<i>Preparation of the catalysts .....</i>	<i>87</i>
2.2.5.3	<i>General representative procedure for the asymmetric aldol reaction.....</i>	<i>89</i>
2.2.6	Supporting information.....	93
2.2.7	Author information.....	94
2.2.8	Acknowledgments.....	94
2.2.9	References.....	94
<b>3</b>	<b>Chapitre 3 : Réaction d'addition de Michael catalysée par l'anion d'un sel d'imidazolium .....</b>	<b>96</b>

<b>3.1</b>	<b>Préface.....</b>	<b>97</b>
<b>3.2</b>	<b>Article 2 : Asymmetric Michael Addition Induced by the Anion of an Imidazolium Salt .....</b>	<b>98</b>
3.2.1	Abstract .....	99
3.2.2	Introduction.....	99
3.2.3	Results and discussion .....	100
3.2.4	Conclusions.....	106
3.2.5	Experimental section.....	107
3.2.5.1	<i>General procedure for the asymmetric Michael addition: .....</i>	<i>107</i>
3.2.5.2	<i>Characterization .....</i>	<i>108</i>
3.2.5.3	<i>Recycling procedure: .....</i>	<i>110</i>
3.2.6	Supporting information.....	110
3.2.7	Acknowledgements.....	110
3.2.8	References.....	111
<b>4</b>	<b>Chapitre 4 : Inclusion d'un sel d'imidazolium catalytique dans l'avidine : vers un nouveau type de catalyseur bio-hybride. ....</b>	<b>112</b>
<b>4.1</b>	<b>Préface.....</b>	<b>113</b>
<b>4.2</b>	<b>Article 3: Encapsulation of a catalytic imidazolium salt in avidin: towards the development of a biohybrid catalyst active in ionic liquids .....</b>	<b>114</b>
4.2.1	Abstract: .....	115
4.2.2	Introduction.....	115
4.2.3	Results and discussion .....	117
4.2.4	Conclusion .....	132
4.2.5	Experimental section.....	132
4.2.5.1	<i>General.....</i>	<i>132</i>
4.2.5.2	<i>Typical procedure for the aldol reaction .....</i>	<i>132</i>
4.2.6	Acknowledgements.....	133
4.2.7	References.....	133
<b>5</b>	<b>Chapitre 5 : Influence de la structure et la chiralité de l'anion sur l'activité du catalyseur bio-hybride obtenu avec l'avidine .....</b>	<b>135</b>



<b>5.1</b>	<b>Préface.....</b>	<b>136</b>
<b>5.2</b>	<b>Article 4: Catalytic anions embedded into avidin: importance of their chirality and the chiral environment on the stereocontrol of the aldol reaction .....</b>	<b>137</b>
5.2.1	Abstract .....	138
5.2.2	Introduction.....	138
5.2.3	Results and discussion .....	140
5.2.4	Conclusion .....	147
5.2.5	General experimental methods.....	148
5.2.5.1	<i>Materials .....</i>	<i>148</i>
5.2.5.2	<i>Representative procedure for the peptidic coupling between proline and the corresponding amino alcohol .....</i>	<i>149</i>
5.2.5.3	<i>Representative procedure for the preparation of zwitterions 4 to 9, and 13 to 15 .....</i>	<i>151</i>
5.2.5.4	<i>Representative procedure for the preparation of biotinylated salts Biot-4 to Biot-11 .....</i>	<i>153</i>
5.2.5.5	<i>Representative procedure for the aldol reaction. ....</i>	<i>157</i>
5.2.6	Acknowledgments.....	157
5.2.7	Supporting information available.....	157
5.2.8	References.....	157
<b>6</b>	<b>Conclusions et perspectives .....</b>	<b>159</b>
<b>6.1</b>	<b>Bilan des travaux présentés.....</b>	<b>160</b>
<b>6.2</b>	<b>Perspectives.....</b>	<b>162</b>
<b>6.3</b>	<b>Références .....</b>	<b>164</b>
<b>7</b>	<b>Partie Expérimentale .....</b>	<b>166</b>
	<b>Annexe 1 : Partie expérimentale de l'article 1 : « Asymmetric aldol reaction catalyzed by the anion of an ionic liquid » .....</b>	<b>168</b>
	<b>Annexe 2 : Partie expérimentale de l'article 2 : « Asymmetric Michael addition induced by the anion of an imidazolium salt » .....</b>	<b>177</b>

<b>Annexe 3</b> : Partie expérimentale de l'article 3 : « Encapsulation of a catalytic imidazolium salt in avidin: towards the development of a new type of bio-hybrid catalyst active in ionic liquids».....	182
<b>Annexe 4</b> : Partie expérimentale de l'article 4 : « Catalytic anions embedded into avidin: importance of their chirality and the chiral environment on the stereocontrol of the aldol reaction ».....	204

## Liste des tableaux

Table 2.1 : Solvent screening .....	79
Table 2.2 : Influence of acidic additives .....	80
Table 2.3 : Concentration studies.....	81
Table 2.4 : Influence of catalyst loading.....	81
Table 2.5 : Substrate scope.....	83
Table 2.6 : Recycling studies .....	86
Table 3.1 : Solvent screening.....	101
Table 3.2 : Concentration studies.....	102
Table 3.3 : Influence of additives.....	102
Table 3.4 : Catalyst loading .....	103
Table 3.5 : Substrate scope.....	104
Table 3.6 : Recycling tests .....	106
Table 4.1 : Solvent screening.....	120
Table 4.2 : Control experiments.....	123
Table 4.3 : Influence of pH .....	124
Table 4.4 : Effect of the cationic scaffold.....	127
Table 5.1 : Anion screening .....	143
Table 5.2 : Influence of the chirality of the anion on the selectivity of the reaction .....	145
Table 5.3 : Substrate scope.....	146

## Liste des figures

Figure 1.1 : Cations et anions dans la structure des liquides ioniques.....	23
Figure 1.2 : Premiers sels d'imidazolium stables à l'air .....	24
Figure 1.3 : Préparation de sels d'imidazolium .....	24
Figure 1.4 : Premier exemple de LITS pour une réaction de Friedel-Crafts.....	25
Figure 1.5 : Exemples de sels d'imidazolium fonctionnalisés en position C-2 (composés <b>1.4</b> et <b>1.5</b> ) et en positions C-4 et C-5 (composés <b>1.6</b> et <b>1.7</b> ) .....	25
Figure 1.6 : Interactions de type pont hydrogène (A), empilement $\pi$ (B) et empilement T (C) présents dans les sels d'imidazolium .....	26
Figure 1.7 : Premier exemple de réaction de Diels-Alder dans un liquide ionique .....	27
Figure 1.8 : Influence du solvant sur la réactivité.....	28
Figure 1.9 : Activation d'un complexe de platine par un liquide ionique.....	29
Figure 1.10 : Liquide ionique utilisé par Baker <i>et al.</i> pour la stabilisation des protéines....	30
Figure 1.11 : Série de Hofmeister .....	31
Figure 1.12 : « Nouvelle » série de Hofmeister adaptée aux LIs.....	32
Figure 1.13 : Exemples de liquides ioniques chiraux .....	33
Figure 1.14 : Réaction de Baylis-Hillman en milieu LIC rapporté par Vo-Thanh <i>et al.</i> ....	33
Figure 1.15 : Premier NHC préparé à base d'un sel d'imidazolium ( <b>1.14</b> ) et premier NHC isolé ( <b>1.15</b> ) .....	35
Figure 1.16 : Quelques exemples de NHC utilisés en catalyse.....	35
Figure 1.17 : Formation d'un NHC <i>in situ</i> dans du [Bmim]Br.....	37
Figure 1.18 : Exemples de LITSs utilisés par Davies et Rogers.....	38
Figure 1.19 : Exemples de sels d'imidazolium comme support en catalyse métallique.....	39
Figure 1.20 : LIs à « multicouche » de liquide ionique utilisé par Mehnert.....	40
Figure 1.21 : Premier solvant-catalyseur LI proposé par Gausepohl <i>et al.</i> .....	41
Figure 1.22 : Les intermédiaires iminium et ène-amine .....	42
Figure 1.23 : La première réaction d'aldol intramoléculaire catalysée par la L-proline.....	43
Figure 1.24 : Origine de la sélectivité pour la réaction d'aldol intermoléculaire .....	43
Figure 1.25 : Premier exemple de LITS dont le cation imidazolium est modifié.....	44

Figure 1.26 : Différents catalyseurs donc le cation est fonctionnalisé par un dérivé L-proline .....	45
Figure 1.27 : Premier LITS dont l'anion joue le rôle de catalyseur .....	46
Figure 1.28 : Structure des LIs avec un anion acide aminé (gauche), et le liquide ionique étudié par Wang <i>et al.</i> ( <b>1.34</b> ).....	47
Figure 1.29 : Énantiosélectivité dépendante du solvant.....	47
Figure 1.30 : Application du composé <b>1.34</b> pour des réactions d'aldol, et état de transition proposé. ....	48
Figure 1.31 : Exemple de chimzyme mimant le mode d'action d'une glycosidase.....	50
Figure 1.32 : Premier exemple de modification chimique d'une enzyme .....	51
Figure 1.33 : Fonctionnalisation des résidus lysine d'une lipase par des LIs .....	52
Figure 1.34 : Complexe de Mn (salen) incorporé à une apomyoglobine.....	53
Figure 1.35 : Catalyseur lié à l' $\alpha$ -chymotrypsine, pour la formation d'une « métathésase » artificielle .....	54
Figure 1.36 : Échange Zn-Mn par dialyse dans une anhydrase carbonique.....	55
Figure 1.37 : Complexe Cu-phtalocyanine ( <b>1.37</b> ) utilisé par Reetz pour la formation d'une « Diels-Aldérase » et le type de substrats utilisés ( <b>1.38</b> ) .....	56
Figure 1.38 : Structure de la vitamine B8, ou D-biotine.....	57
Figure 1.39 : Complexe entre un monomère de l'avidine (blanc) et la D-biotine (rouge). Les chaînes latérales des principaux acides aminés liant la D-biotine par l'intermédiaire de ponts hydrogène ont montrées .....	58
Figure 1.40 : Représentation du site actif de l'avidine. A) Interactions hydrophobes entre la D-biotine et l'avidine; B) Interactions de type ponts hydrogène entre la D-biotine et l'avidine <sup>110</sup> .....	59
Figure 1.41 : Ligand biotinylé utilisé par Whitesides <i>et al.</i> pour la conception d'une hydrogénase artificielle .....	60
Figure 1.42 : Réduction de l'acide $\alpha$ -acétamidoacrylique par l'hydrogénase artificielle ....	61
Figure 1.43 : Insertion d'un espaceur acide aminé dans la structure d'un ligand biotinylé. ....	62
Figure 1.44 : Benzannulation catalysée par un biocatalyseur basé sur le système avidine - D-biotine.....	63

Figure 1.45 : Assistance de la cavité de la streptavidine dans la réaction de benzannulation .....	63
Figure 1.46 : Discrimination de la face d'approche du substrat vers le Rh par fixation double du catalyseur dans la cavité de la streptavidine .....	64
Figure 1.47 : Sel d'imidazolium catalytique possédant un axe cationique biotinylé.....	65
Figure 1.48 : Sels d'imidazolium à tâche spécifique utilisés en catalyse .....	65
Figure 1.49 : Premier sel d'imidazolium biotinylé utilisé.....	66
Figure 1.50 : Seconde génération de sels d'imidazolium biotinylés .....	67
Figure 2.1 : Proposed transition states .....	85
Figure 2.2 : Theoretical calculation of the enamine intermediate obtained with MOPAC, PM6 method.....	86
Figure 3.1 : Proposed transition state.....	106
Figure 4.1 : Supramolecular encapsulation of the biotinylated catalyst in avidin .....	117
Figure 4.2 : Influence of the ionic liquid content on the enantioselectivity of the reaction	121
Figure 4.3 : Circular dichroism spectra of avidin (solid line) and <b>I·Av</b> (dotted line) at 0.5 mg.mL <sup>-1</sup> .....	122
Figure 4.4 : Trends in selectivity with varying pH .....	125
Figure 4.5 : Variation of the structure of the cationic scaffold .....	126
Figure 5.1 : Variation of the anion structure.....	139
Figure 5.2 : Design of the anion.....	140
Figure 5.3 : Structure of the zwitterionic precursors .....	141
Figure 5.4 : Diastereoisomers of <b>7</b> .....	144
Figure 6.1 : Préparation d'un précurseur de ligand diphosphine .....	162
Figure 6.2 : Complexes métalliques formés ( <b>6.4</b> et <b>6.5</b> ) à partir du composé <b>6.3</b> , et catalyseur biotinylé envisageable ( <b>6.6</b> ). .....	163
Figure 6.3 : Sel d'imidazolium biotinylé greffé sur une surface solide .....	164

## Liste des schémas

Scheme 2.1 : Synthesis of the anion .....	77
Scheme 2.2 : Preparation of the catalyst .....	78
Scheme 2.3 : Preparation of catalyst <b>7</b> .....	82
Scheme 3.1 : Synthesis of the catalyst .....	100
Scheme 4.1 : Synthesis of the biotinylated catalyst .....	118
Scheme 4.2 : Initial reaction conditions for the aldol reaction .....	119
Scheme 4.3 : Reaction conditions using I·Av as the catalyst .....	119
Scheme 4.4 : Influence of the chirality of the anion .....	129
Scheme 4.5 : The role of the imidazolium cation in the catalytic process .....	130
Scheme 4.6 : Possible transition states for a) [ <b>Bmim</b> ]-L-6, and b) [ <b>Bdmim</b> ]-L-6 .....	131
Schéma 5.1 : Preparation of the zwitterionic precursors .....	141

## Liste des abréviations

<b>Å</b>	<i>ångström</i>
<b>a.a.</b>	<i>acide aminé</i>
<b>Ac</b>	<i>acétyle</i>
<b>ADN</b>	<i>acide désoxyribonucléique</i>
<b>Ala</b>	<i>alanine</i>
<b>Ar</b>	<i>aromatique</i>
<b>Av</b>	<i>avidine</i>
<b>BF<sub>4</sub></b>	<i>tétrafluoroborate</i>
<b>Bmim</b>	<i>1-butyl-3-méthylimidazolium</i>
<b>Bn</b>	<i>benzyle</i>
<b>Boc</b>	<i>carbonate de tert-butyle</i>
<b>br. s.</b>	<i>singulet large</i>
<b>BSA</b>	<i>albumine du sérum bovin</i>
<b>Bu</b>	<i>butyle</i>
<b>CALB</b>	<i>candida antarctica lipase B</i>
<b>CD</b>	<i>dichroïsme circulaire</i>
<b>Cy</b>	<i>cyclohexyle</i>
<b>Cys</b>	<i>cystéine</i>
<b>dabco</b>	<i>1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane</i>
<b>dca</b>	<i>dicyanamide</i>
<b>DCC</b>	<i>dicyclohexylcarbodiimide</i>
<b>DCM</b>	<i>dichlorométhane</i>
<b>DCU</b>	<i>dicyclohexylurée</i>
<b>δ</b>	<i>déplacement chimique</i>
<b>d</b>	<i>doublet</i>
<b>dd</b>	<i>doublet de doublet</i>
<b>DMF</b>	<i>diméthylformamide</i>
<b>DMSO</b>	<i>diméthyl sulfoxide</i>



<b>DNBA</b>	<i>acide dinitrobenzoïque</i>
<b>dr</b>	<i>ratio diastéréomérique</i>
<b>ee</b>	<i>excès énantiomérique</i>
<b>Emim</b>	<i>1-éthyl-3-méthylimidazolium</i>
<b>eq.</b>	<i>équivalent</i>
<b>ESI</b>	<i>informations supplémentaires électroniques</i>
<b>ESI(+)</b>	<i>ionisation par électronébuliseur en mode positif</i>
<b>ESI(-)</b>	<i>ionisation par électronébuliseur en mode négatif</i>
<b>Et</b>	<i>éthyle</i>
<b>et al</b>	<i>et alii</i>
<b>His</b>	<i>histidine</i>
<b>HPLC</b>	<i>chromatographie liquide à haute performance</i>
<b>HRMS</b>	<i>spectrométrie de masse à haute résolution</i>
<b>HSA</b>	<i>albumine du sérum humain</i>
<b>IR</b>	<i>Spectroscopie infrarouge</i>
<b>J</b>	<i>constante de couplage</i>
<b>kDa</b>	<i>kilodalton</i>
<b><math>\lambda</math></b>	<i>longueur d'onde</i>
<b>LI</b>	<i>liquide ionique</i>
<b>LIC</b>	<i>liquide ionique chiral</i>
<b>LITS</b>	<i>liquide ionique à tâche spécifique</i>
<b>LUMO</b>	<i>orbitale moléculaire non occupée de plus basse énergie</i>
<b>Lys</b>	<i>lysine</i>
<b>m</b>	<i>multiplet</i>
<b>Me</b>	<i>méthyle</i>
<b>Mes</b>	<i>mésityle (1,3,5 – triméthylbenzène)</i>
<b>MHZ</b>	<i>mégahertz</i>
<b>ml</b>	<i>millilitre</i>
<b>NHC</b>	<i>carbène N-hétérocyclique</i>
<b>NHS</b>	<i>N-hydroxysuccinimide</i>

<b>NTf<sub>2</sub></b>	<i>bis(trifluorométhanesulfonimide)</i>
<b><i>p</i>-TSA</b>	<i>acide paratoluènesulfonique</i>
<b>PF<sub>6</sub></b>	<i>hexafluorophosphate</i>
<b>Ph</b>	<i>phényle</i>
<b>Phe</b>	<i>phénylalanine</i>
<b>Pro</b>	<i>proline</i>
<b>q</b>	<i>quadruplet</i>
<b>quant</b>	<i>quantitatif</i>
<b>quint</b>	<i>quintuplet</i>
<b>rac</b>	<i>racémique</i>
<b>RMN</b>	<i>résonance magnétique nucléaire</i>
<b>s</b>	<i>singulet</i>
<b>Ser</b>	<i>sérine</i>
<b>t</b>	<i>triplet</i>
<b>THF</b>	<i>tétrahydrofuranne</i>
<b>Tf</b>	<i>triflyle</i>
<b>TFA</b>	<i>acide trifluoroacétique</i>
<b>Thr</b>	<i>thréonine</i>
<b>TLC</b>	<i>thin layer chromatography (chromatographie sur couche mince)</i>
<b>TMS</b>	<i>triméthylsilane</i>
<b>tr</b>	<i>temps de rétention</i>
<b>Trp</b>	<i>tryptophane</i>
<b>Ts</b>	<i>tosyle</i>
<b>Tyr</b>	<i>tyrosine</i>
<b>v/v</b>	<i>pourcentage volumique</i>

*À Laure,*

*À ma famille,*

*À la mémoire de M<sup>me</sup> Brigitte Bardin.*

## Remerciements

À regarder cinq ans en arrière, je me suis rendu compte que le temps est passé excessivement vite. Mais ces cinq années ont été denses en expériences de toutes sortes, toutes rendues possibles car Andreea m'a accueilli dans son groupe, sans vraiment trop me connaître. J'aimerais pour ça te remercier du fond du cœur, pour m'avoir laissé la chance de venir dans ton groupe, m'avoir guidé et supporté tout au long de ces cinq années de recherche, qui feront probablement partie des plus belles de ma vie. J'ai pu apprécier à la fois ta disponibilité et ton optimisme dans les moments moins marrants de mon doctorat, les opportunités que tu m'as données, la liberté formatrice que tu nous laisses, à tous dans ton groupe, mais aussi et surtout ta compréhension et tes qualités humaines qui m'ont énormément apporté tout au long de ces cinq années. Pour tout ça, merci infiniment, ça n'a rendu le tout que plus agréable.

Alors, mon groupe. Bon, je ne vais pas tous vous énumérer un à un, ça va être trop long. Je veux quand même souligner les gens qui étaient là à mon arrivée, et qui m'ont tout appris ou presque en chimie, et pas seulement en chimie, particulièrement Nadim Noujeim et Mathieu Branca. Les anciens, Salim, Christophe, Christine, Chester, Marie, Arnaud, Vaizanne, Audrey, Nicolas, Sabine, Vincent, Alexandre et Samantha pour leur gentillesse et leur patience. Les membres actuels, Julie Julien, Mathieu Vanessa, Dat, Claude pour avoir créé une ambiance de travail plus qu'idéale. Merci de m'avoir enduré, j'aurais du mal à retrouver un espace de travail aussi familial que celui là. Bon, finalement, je vous ai tous cités. Mention spéciale à Marc Vidal (je sais que ça te plaira), pour m'avoir énormément apporté, et pavé le chemin jusqu'à la soutenance. Ça a été une chance pour moi de vous cotoyer, et d'apprendre de vous tous. Merci les amis !

Je voudrais saluer les stagiaires que j'ai pu encadrer au long de ces presque cinq ans, particulièrement Julien et Simon, je pense que ça a été aussi formateur pour eux que pour moi (surtout pour le québécois !).

L'aile V, ce n'est pas uniquement notre groupe, alors je voudrais également remercier le groupe Collins, passé et présent : Augusto, Anne-Catherine et Tatiana, pour leur disponibilité et leur patience, et bien sur tous les autres : Phil, Anna, Marie-Ève, Mike, Jeff,

Mylène, Michael, Antoine, sans oublier leur big boss : Shawn Collins. Un merci particulier à Nathalie Rachel, pour son aide en anglais.

Et bien évidemment, tous les gens que j'ai pu rencontrer dans le département depuis mon arrivée : André, Nico, Stéphane, Etienne, Fred, Mélissa, et tous ceux que j'oublie.

J'aimerais remercier également le personnel permanent du département : Marie-Christine, de la masse, Sylvie Bilodeau du service RMN, Gaëtan Caron, Hélène Laliberté et tout particulièrement Huguette Dinel des labos d'enseignements, pour leur disponibilité et leur bonne humeur.

Une pensée pour tous ceux qui m'ont soutenu dans la musique, c'est un peu un de mes rêves d'enfant. Merci à Nadim, évidemment, mon acolyte guitariste pour tous ces bons moments sur scène, et bien plus.

Enfin, plus personnellement, je voudrais remercier ma famille, pour leur soutien durant tout le long de mon doctorat. C'est majoritairement grâce à vous si j'en suis arrivé là, alors merci à mes parents, Lyliane et Maurice, ainsi que mon frère Simon, et ma belle-sœur Stéphanie, vous étiez toujours là dans les moments les plus difficiles, malgré la distance, et je vous en remercie.

Mes amis, ceux d'ici d'abord, Josée, Chuy et Thibault, mes meilleurs souvenirs d'ici sont avec vous, définitivement. Merci pour tout, vous avez vraiment fait la différence. Amina, et sa bonne humeur éternelle. Mes coloc. Mais aussi mes amis d'ailleurs, ceux qui ne m'ont pas oublié, tout particulièrement Rémi, Amaury, Léa et Bich, merci pour tout ce que je ne veux pas écrire ici. Alaric, pour le soutien à distance. Miz, pour avoir été là et l'être encore.

Le meilleur pour la fin. Je veux remercier Laure, ma fiancée, pour m'avoir épaulé tout le long. Ça a sûrement été bien plus intense pour toi que pour moi, alors merci pour tout ce que tu as fait pour moi. Je n'ai pas les mots qu'il faut. Merci pour tout.

# **Chapitre 1 : Introduction**

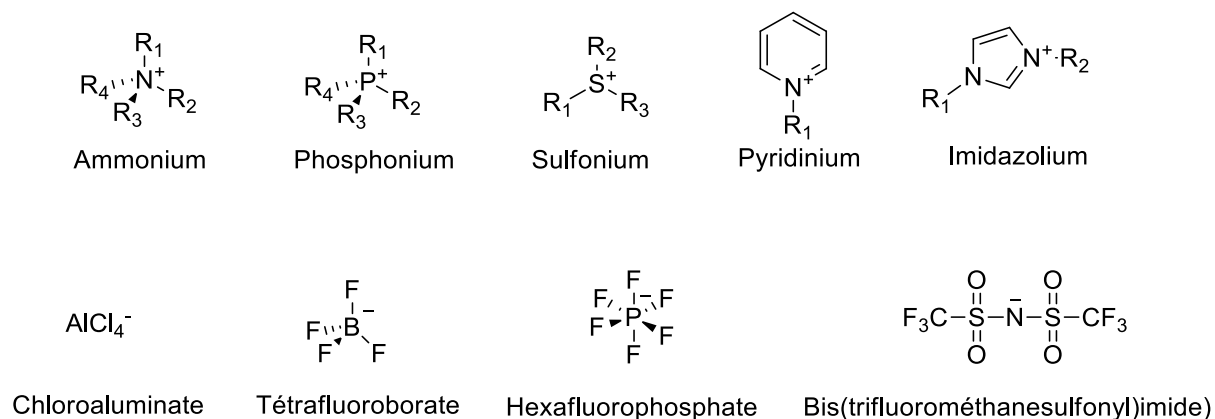
Douze principes fondamentaux régissent depuis quelques dizaines d'années la philosophie de recherche pour un grand nombre de chimistes, qui dirigent de plus en plus leurs travaux vers une chimie verte. Ces douze lois mettent en avant le concept de design dans tout travail de recherche, c'est-à-dire une démarche de design créatif dans le développement de nouveaux procédés chimiques à impact bénin sur l'environnement.<sup>1</sup> C'est dans ce cadre que notre groupe de recherche a porté son intérêt sur l'étude et l'utilisation des liquides ioniques, espèces dont les caractéristiques prometteuses et la versatilité en font des candidats prometteurs pour toutes sortes d'applications dans une optique de chimie plus verte.

## **1.1 Les liquides ioniques**

### **1.1.1 Définition**

Les liquides ioniques (LIs) sont empiriquement définis comme des sels ayant une température de fusion inférieure à 100°C, et sont constitués d'un cation organique et d'un anion pouvant être organique ou inorganique. La première synthèse d'un liquide ionique a été effectuée par Paul Walden en 1914, qui rapporte à ce moment-là la synthèse du nitrate d'éthylammonium, possédant un point de fusion de 13-14°C.<sup>2</sup> Il faudra attendre les années 1970 pour que le groupe de Hussey ne s'intéresse aux propriétés physicochimiques des composés de types sels d'alkylpyridinium.<sup>3-4</sup>

Dresser une liste exhaustive des liquides ioniques existants serait impossible, mais il est à noter que les cations sont souvent des ammoniums alkylés, ainsi qu'une petite proportion de cations sulfonium et phosphonium (Figure 1.1). Les anions, quant à eux, peuvent être des sels inorganiques ou des petites molécules organiques. Leur relation particulière structure-activité permet de faire varier, dépendamment du cation et de l'anion utilisés, leurs propriétés physico-chimiques, telles que leur point de fusion, leur viscosité, leur densité ou encore leur hydrophilie.<sup>5</sup>



**Figure 1.1** : Cations et anions dans la structure des liquides ioniques

Les liquides ioniques démontrent d'intéressantes propriétés physicochimiques, qui en font tout particulièrement de bons candidats en tant que solvants plus verts en synthèse organique, de par leur propriétés suivantes :<sup>6</sup>

- un état généralement liquide, avec une faible viscosité,
- une capacité à dissoudre un grand nombre de composés organiques et inorganiques,
- une pression de vapeur saturante négligeable, et donc aucun caractère volatil,
- une non-miscibilité avec la plupart des solvants organiques, ou encore l'eau, ouvrant la porte à de nouveaux systèmes biphasiques polaires.

Leurs applications sont diverses et s'intègrent dans plusieurs domaines scientifiques tels que l'électrochimie,<sup>7</sup> les nanomatériaux,<sup>8</sup> la chimie industrielle,<sup>9</sup> la biocatalyse<sup>10</sup> et la synthèse organique.<sup>5</sup>

Plus particulièrement, les sels d'imidazolium 1,3-disubstitués constituent une classe à part dans la famille des liquides ioniques, et leurs diverses propriétés ont motivé plusieurs projets de recherches au sein du groupe d'Andreea Schmitzer.<sup>11-13</sup>

### 1.1.2 Les sels d'imidazolium - généralités

Les sels d'imidazolium constituent aujourd'hui la classe la plus grande et la plus étudiée des liquides ioniques. Le premier exemple d'un sel d'imidazolium stable à l'air et à l'eau a été rapporté en 1992 par Wilkes and Zaworotko, qui décrit la préparation de deux LIs,

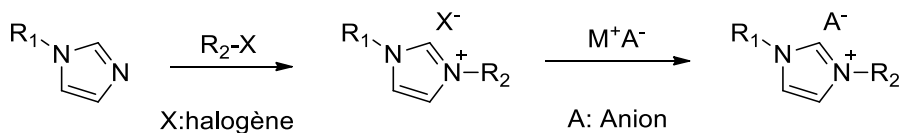


possédant tous deux un cation 1-éthyl-3-méthylimidazolium ([Emim]) avec pour anion un ion tétrafluoroborate (BF<sub>4</sub><sup>-</sup>) pour le composé **1.1**, et un ion acétate pour le composé **1.2**. Ces travaux ont ouvert la porte au développement de ces LIs en particulier (Figure 1.2).<sup>14</sup>



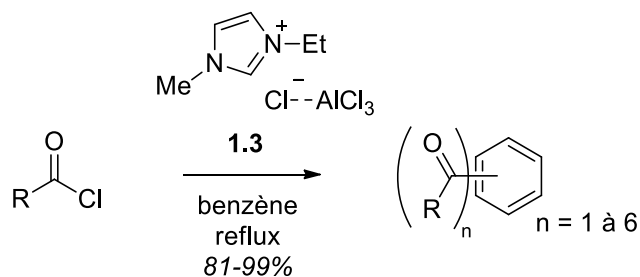
**Figure 1.2** : Premiers sels d'imidazolium stables à l'air

La préparation de ces composés s'effectue par alkylation de l'azote N-3 d'un imidazole N-1 alkylé, suivie d'une réaction de métathèse d'anions permettant d'accéder à une large gamme de composés possédant des propriétés différentes (Figure 1.3). D'autres voies de synthèse plus vertes, à l'aide de micro-ondes, ont été plus récemment développées.<sup>15</sup>



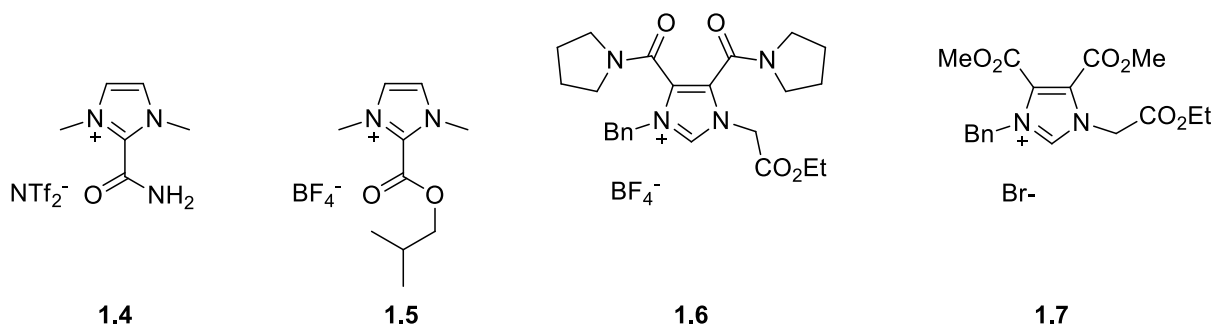
**Figure 1.3** : Préparation de sels d'imidazolium

Les atomes d'azote 1 et 3 sont facilement fonctionnalisables, indépendamment l'un de l'autre, et permettent l'obtention de composés non symétriques. Ces substituants ont un rôle direct sur les propriétés physicochimiques du sel formé, ainsi que sur sa réactivité. Il est alors possible de préparer des liquides ioniques à « tâche spécifique » (LITS).<sup>16-17</sup> Le premier exemple d'un tel liquide ionique a été rapporté par Wilkes *et al.* Ce groupe de recherche a décrit la formation d'un acide de Lewis *in situ* en mélangeant un sel de chlorure d'imidazolium et du chlorure d'aluminium, et a démontré le rôle de solvant et catalyseur de l'espèce formée pour des réactions de Friedel-Crafts (Figure 1.4).<sup>18</sup>



**Figure 1.4** : Premier exemple de LITS pour une réaction de Friedel-Crafts

L'atome d'hydrogène H-2 porté par le carbone entre les deux atomes d'azote du noyau imidazolium possède un pKa d'environ 22 dans l'eau,<sup>19</sup> permettant sa déprotonation et la formation de carbènes N-hétérocycliques comme ligands en chimie organométallique,<sup>20-21</sup> ou comme organocatalyseurs.<sup>22</sup> La possibilité de fonctionnaliser la position C-2, mais aussi les positions C-4 et C-5, permettent une grande liberté de modulabilité des propriétés des sels d'imidazolium. Ainsi, récemment, Connon *et al.* ont rapporté la préparation de sels d'imidazolium substitués par des groupements électroattracteurs en positions C-2, C-4 et C-5, et leurs propriétés catalytiques<sup>23</sup>, antimicrobiennes et de biodégradation (Figure 1.5).<sup>24</sup>

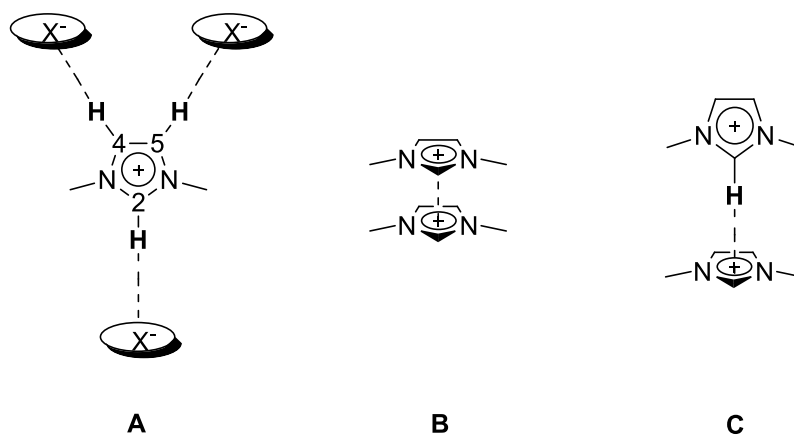


**Figure 1.5** : Exemples de sels d'imidazolium fonctionnalisés en position C-2 (composés **1.4** et **1.5**) et en positions C-4 et C-5 (composés **1.6** et **1.7**)

Les auteurs remarquent que la fonctionnalisation des noyaux imidazolium par des groupements électroattracteurs permet de modifier leur réactivité vis-à-vis du méthanol dans

le cadre de la formation d'un acide de Brønsted, mais ne jouent aucun rôle conséquent sur la biodégradation de ces composés.

De par leur structure, les liquides ioniques se comportent différemment des solvants classiques, et montrent un caractère ordonné.<sup>25-26</sup> Aux trois états de la matière, ils peuvent former des structures tridimensionnelles par le biais d'interactions de type ponts hydrogène, empilements  $\pi$  et empilements T (Figure 1.6). Les LI de type sels d'imidazolium sont souvent considérés comme des nanostructures organisées, plutôt que comme des solvants, avec la formation de nanorégions polaires et apolaires, cette propriété leur conférant leur grande capacité de solubilisation de petites molécules.<sup>27</sup>



**Figure 1.6 :** Interactions de type pont hydrogène (A), empilement  $\pi$  (B) et empilement T (C) présents dans les sels d'imidazolium<sup>27</sup>

Toutes ces caractéristiques ont très vite fait des liquides ioniques des espèces intéressantes dans le cadre de la synthèse organique. L'idée de pouvoir développer des solvants « sur mesure » pour améliorer des procédés existants ou en développer des nouveaux a provoqué un essor de leur étude et a ouvert la voie vers le développement de nouvelles espèces. Dans ces travaux, les propriétés des sels d'imidazolium comme solvants et comme catalyseurs ont été étudiées.

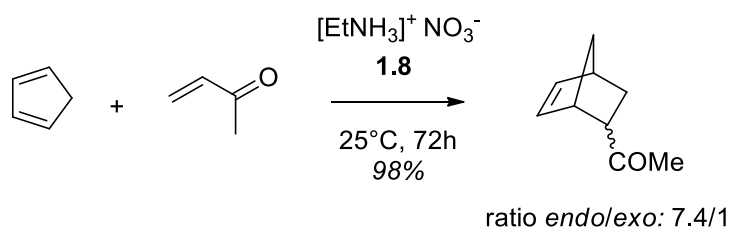
## 1.2 Les liquides ioniques en synthèse

### 1.2.1 Applications des liquides ioniques en tant que solvants

Presentés comme alternative verte aux solvants organiques classiques, les LI ont d'abord été utilisés comme solvants dans différents domaines de la synthèse, comme la chimie stœchiométrique, l'organocatalyse, la catalyse organométallique, ou encore la biocatalyse.<sup>5, 28</sup>

#### 1.2.1.1 Utilisation en synthèse organique

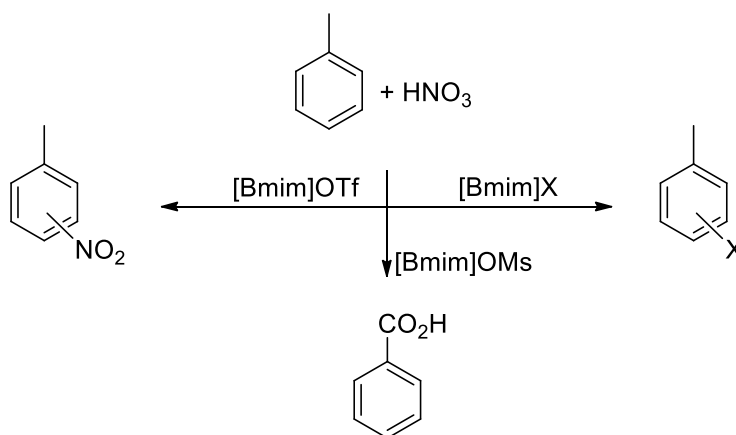
Un des premiers exemples marquants a été rapporté en 1989 par Jaeger et Tucker.<sup>29</sup> Ils démontrent non seulement la compatibilité du liquide ionique **1.8** pour une réaction de Diels-Alder, mais rapportent des vitesses de réaction accrues et sélectivités meilleures que lors de l'utilisation de solvants classiques (Figure 1.7).



**Figure 1.7** : Premier exemple de réaction de Diels-Alder dans un liquide ionique

Il a été rapporté plus tard par Welton *et al.* que cette hausse de sélectivité et de vitesse de réaction est provoquée par des interactions de type pont hydrogène entre le diénophile et le cation du LI, qui joue le rôle d'un acide de Brønsted, mais que ce facteur n'était pas le seul responsable. Le contre-anion du liquide ionique jouerait aussi un rôle à cause de sa capacité à former des ponts hydrogène avec le liquide ionique, de manière compétitive.<sup>30</sup> Un autre exemple marquant de l'influence des liquides ioniques sur des transformations chimiques a été décrit par Seddon *et al.*<sup>31</sup> En plus de pouvoir moduler les propriétés physicochimiques des liquides ioniques utilisés, ce groupe démontre pour la première fois la modulabilité de la réaction en elle-même : la réaction entre l'acide nitrique et le toluène a été effectuée dans

trois liquides ioniques différents, et a mené à la formation de trois produits distincts, avec d'excellents rendements (Figure 1.8)



**Figure 1.8** : Influence du solvant sur la réactivité

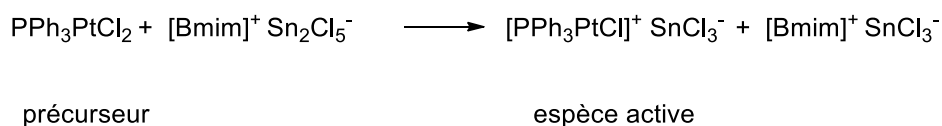
En utilisant un cation 1-butyl-3-méthylimidazolium ([Bmim]), la seule variation de l'anion permet d'obtenir sélectivement des produits différents. D'autres types de réactions de formation de lien carbone-carbone utilisant les liquides ioniques comme solvants, tels que des réactions d'aldol,<sup>32</sup> d'addition de Michael,<sup>33</sup> ou encore de condensations de Knoevenagel ont également été rapportées.<sup>34</sup>

### 1.2.1.2 Utilisation en catalyse organométallique

Dans n'importe quel procédé chimique, les étapes suivant la réaction sont au moins toutes aussi importantes à prendre en compte dans l'impact environnemental. C'est dans ce cadre que les liquides ioniques s'inscrivent comme des solvants de choix pour la catalyse métallique homogène et hétérogène. L'espèce catalytique va être immobilisée dans la phase liquide ionique, et les produits de réaction pourront être récupérés par simple extraction ou décantation. La phase LI/catalyseur va pouvoir être réutilisée par la suite, souvent sans perte d'activité notable. Ce processus d'immobilisation/recyclage est particulièrement intéressant dans la cadre de la chimie organométallique, où les enjeux écologiques côtoient les enjeux économiques.<sup>28</sup> Un des exemples les plus marquants de l'usage d'un liquide ionique comme solvant en catalyse organométallique est rapporté par Chauvin *et al.*, qui rapporte la dimérisation du propène catalysée par un complexe de nickel. Dans cet exemple de catalyse biphasique, les produits de la réaction n'étant pas solubles dans le solvant ([Bmim]Cl-AlCl<sub>3</sub>),

les auteurs les isolent par décantation du milieu réactionnel, et le mélange réactionnel contenant le catalyseur peut être réutilisé plusieurs fois.

Dépendamment de ses caractéristiques, le LI peut être vu comme un solvant « innocent », ou un co-catalyseur.<sup>35</sup> En effet, les sels de tétrafluoroborate ou d'héxafluorophosphate sont souvent considérés comme inertes. Ils agissent comme solvants polaires et peu coordinants, offrant des meilleures propriétés de solubilisation que les solvants organiques classiques. En revanche, certains LIs préparés à l'aide d'acides de Lewis, comme les chloroaluminates,<sup>36</sup> ou les chlorostannates<sup>37</sup> sont capables d'agir comme cocatalyseur, grâce à leur caractère acide ou basique latent. Wasserscheid *et al.* mettent en évidence le rôle d'activation d'un complexe de titane par un liquide ionique (Figure 1.9).<sup>38</sup>



**Figure 1.9** : Activation d'un complexe de platine par un liquide ionique

Les auteurs justifient la formation du complexe de platine cationique par réaction acide-base de Lewis entre le précurseur de platine et le chlorostannate. Les performances du système utilisé pour des réactions d'hydroformylation sont rapportées. Le temps de vie du catalyseur et la régiosélectivité observés lors de l'hydroformylation du 3-penténoate de méthyle dans leur système sont supérieurs à ceux décrits pour des solvants classiques (dichlorométhane). Depuis lors, d'innombrables exemples de réactions métallocatalysées utilisant des liquides ioniques comme solvants ont été rapportés.<sup>28</sup>

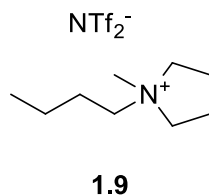
### 1.2.1.3 Les liquides ioniques en biocatalyse

La stabilité des protéines repose principalement sur les interactions hydrophobes et les ponts hydrogènes présents dans leurs structures. Afin d'augmenter la tolérance des protéines à leur environnement extérieur, il est possible soit de modifier la protéine en elle-même, par mutagenèse dirigée, ou bien par fixation des protéines sur une surface solide, comme par exemple de l'or.<sup>39</sup> Une autre possibilité serait de choisir un solvant qui confère

les mêmes possibilités d'interactions non liantes que l'eau, et c'est dans cette optique que les liquides ioniques entrent en jeu, de par leur grande modulabilité. Les protéines n'ont qu'une faible tolérance aux solvants organiques classiques, et sont souvent dénaturées par ceux-ci. Bien que l'eau soit un solvant de choix pour la biocatalyse, certains défauts comme des réactions parasites (l'hydrolyse) ou une mauvaise solubilité des substrats ont conduit à envisager les LIs comme solvants alternatifs lorsque des protéines sont utilisées.

#### 1.2.1.3.1 Cas des liquides ioniques hydrophobes

Le premier exemple d'étude de tolérance de biomolécules vis-à-vis des LIs remonte en 1984, et fut décrit par le groupe d'Evans.<sup>40</sup> Les travaux démontrent que malgré une perte partielle d'activité enzymatique, la phosphatase alcaline pouvait tolérer une solution aqueuse contenant jusqu'à 80% v/v de nitrate d'éthylammonium. Baker *et al.* ont rapporté en 2005 une stabilisation supérieure de la monelline par un liquide ionique hydrophobe **1.9** (Figure 1.10).<sup>41</sup>



**Figure 1.10** : Liquide ionique utilisé par Baker *et al.* pour la stabilisation des protéines

Les auteurs mettent en évidence par fluorescence une forte hausse de la température de dénaturation de la monelline quand celle-ci est dissoute dans le sel de pyrrolidinium **1.9**. Cette température, avoisinant les 40°C dans l'eau, passe à 100°C dans le LI. Les auteurs postulent que l'hydrophobie du LI diminue le degré d'hydratation de la protéine, la protégeant d'effets néfastes à haute température. Sheldon *et al.* ont également montré l'utilisation de la lipase *Candida Antartica* B (CAL B) en milieu LI, déjà fréquemment utilisé en synthèse organique, et connue pour sa résistance aux milieux non naturels.<sup>42</sup> Dans leur cas, les performances de l'enzyme sont comparables, voir améliorées en milieu liquide ionique, bien que l'enzyme libre offrait des performances moins bonnes que ses homologues

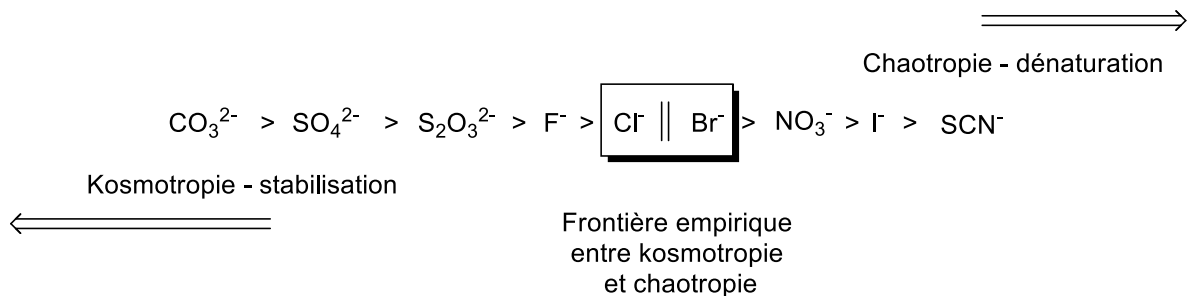
immobilisées sur des surfaces solides.<sup>43</sup> Dans le cas où des LIs hydrophobes sont utilisés, le maintien de la structure et de l'activité des enzymes considérées relèverait d'un d'état de haute dispersion plutôt que de solubilisation dans le LI, étant donné la faible solubilité de ce type de biomolécules dans des LIs hydrophobes.<sup>44</sup>

#### 1.2.1.3.2 Cas des liquides ioniques hydrophiles

Dans le cas des liquides ioniques hydrophiles, le problème de solubilité peut être contourné en ajoutant une petite quantité d'eau, qui conduit à conserver leurs propriétés.<sup>45</sup> L'avantage majeur de l'utilisation de ces LIs hydrophiles repose sur le fait qu'une plus grande concentration de protéine solubilisée peut être atteinte dans le LI. Outre une hausse de la température de dépliement observée dans les liquides ioniques, des cas de repliements sont décrits dans la littérature, mais cette propriété semble être dépendante de la protéine considérée.<sup>46</sup>

#### 1.2.1.3.3 Influence du cation et de l'anion sur la stabilisation des protéines

Franz Hofmeister étudie en 1888 l'influence des anions en solution aqueuse sur la précipitation des protéines présentes dans le blanc d'œuf de poule.<sup>47</sup> Furent définis alors les termes *kosmotropie* (qui crée de l'ordre) et *chaotropie* (qui crée du désordre). Hofmeister définit une échelle classant les anions selon leurs effets kosmotropes ou chaotropes, ou les anions chaotropes déstabiliseront les structures des protéines et seront considérés comme dénaturants, par opposition aux anions kosmotropes, ayant tendance à préserver la structure native des protéines (Figure 1.11).<sup>48</sup>

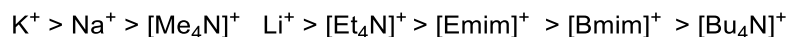


**Figure 1.11** : Série de Hofmeister

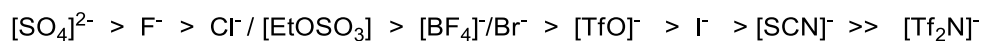


Les liquides ioniques s'inscrivent difficilement dans cette série, du fait des cations organiques qui les constituent. Herrmann *et al.* définissent une « nouvelle » série basée sur leurs constatations qui suit l'ordre suivant (Figure 1.12).<sup>44</sup>

Cations



Anions

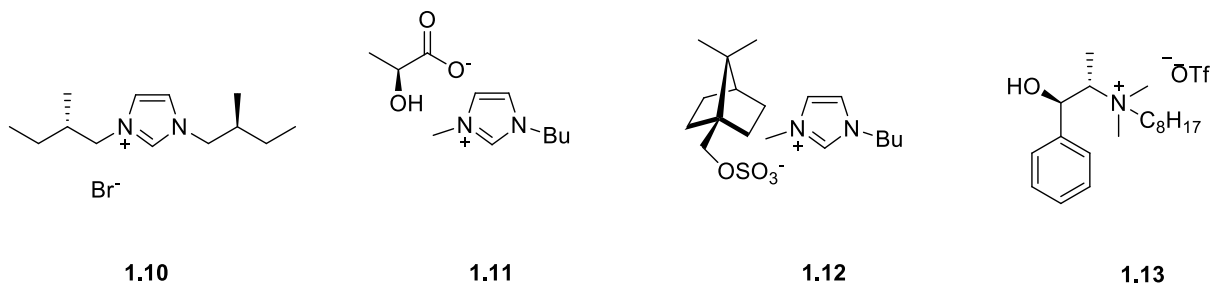


**Figure 1.12 :** « Nouvelle » série de Hofmeister adaptée aux LIs

Cependant, même avec cette série, aucune règle absolue ne peut être définie dans le cas des liquides ioniques. Un point majeur soulevé par les auteurs est que la série de Hofmeister doit s'appliquer dans des cas de dilutions extrêmes pour négliger les interactions cation-anion. Dans le cas de l'utilisation des liquides ioniques, les concentrations sont très souvent élevées, et les interactions anion-cation deviennent importantes. Cabrita *et al.* ont décrit très récemment l'influence de l'anion pour un même cation sur la conformation de la protéine Im7.<sup>49</sup> En exposant la protéine à deux sels ayant le même cation [Bmim] (déstabilisant), et deux anions différents (un anion Cl<sup>-</sup>, stabilisant, un anion dicyanamide, très déstabilisant (dca), les auteurs remarquent que la moindre stabilité observée dans le [Bmim]dca relève du fait que l'anion, peu solvato, déshydrate le squelette polypeptidique, apportant donc un effet déstabilisant. La même logique s'applique aux cations : leur hydrophobie est directement dépendante de leur capacité à dénaturer la protéine. Les auteurs montrent également que le cation [Emim] a un effet moins fort que le [Bmim] sur la conformation de la protéine Im7. Cependant, ils appuient le fait que les interactions cation-anion sont primordiales dans ces mécanismes de stabilisation-déstabilisation, car aucun effet des anions n'est observé en l'absence du cation. Cet exemple souligne bien le fait que la combinaison anion-cation régit le mécanisme d'action du LI sur la protéine considérée. De plus, la série d'Hofmeister ne régirait pas uniquement les interactions eau-anion, mais plutôt les interactions ion-protéine-eau. La combinaison illimitée de cations et d'anions disponibles permettrait de pouvoir optimiser les LIs vers des solvants plus stabilisants.

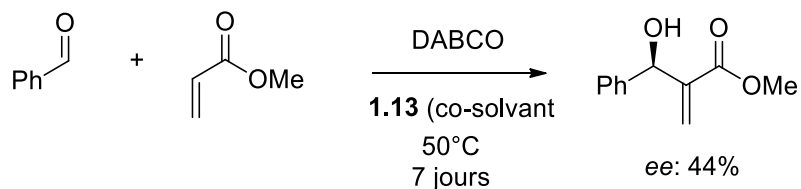
### 1.2.1.4 Les liquides ioniques comme solvants chiraux

Les liquides ioniques chiraux constituent une famille récente de liquides ioniques. Principalement utilisés en synthèse asymétrique, ils ont aussi été utilisés en spectroscopie<sup>50</sup> et comme phase stationnaire en chromatographie.<sup>51</sup> Étant donné leur assemblage ultra-organisé, leur potentiel d'induction de chiralité est fort. La chiralité peut être apportée par le cation, l'anion, ou bien les deux ions simultanément (Figure 1.13).



**Figure 1.13** : Exemples de liquides ioniques chiraux

Le premier exemple de liquide ionique chiral (LIC) a été rapporté par McCormac *et al.*<sup>52</sup> Les auteurs utilisent le sel d'imidazolium **1.10** pour catalyser une réaction de Diels-Alder, mais n'obtiennent qu'un excès énantiomérique (*ee*) inférieur à 5%. D'autres exemples ont été rapportés, pour des réactions de Diels-Alder, (**1.11**) et leurs versions aza- (**1.12** et **1.13**), mais encore une fois sans aucun résultat concluant.<sup>53-55</sup> À ce jour, un seul exemple d'induction chirale significative a été rapporté, utilisant le LIC **1.13**, dérivé de la N-méthyléphédrine, dans une réaction de Baylis-Hillman (Figure 1.14).<sup>56</sup>



**Figure 1.14** : Réaction de Baylis-Hillman en milieu LIC rapporté par Vo-Thanh *et al.*<sup>55</sup>

Les auteurs prouvent que la hausse du nombre d'équivalents du composé **1.13** jusqu'à 3 est nécessaire pour augmenter la sélectivité jusqu'à arriver à un *ee* de 44%. Cependant, le rendement en est affecté à cause d'une réaction parasite entre le benzaldéhyde et le groupement hydroxy du LIC.

Si les liquides ioniques ont su se révéler être un outil puissant pour plusieurs applications dans le domaine de la synthèse, l'induction de chiralité par des solvants LIC reste un domaine très peu exploité du fait de leurs faibles performances. Cependant, l'utilisation de LICs comme catalyseurs ou comme ligands pour des métaux de transition se révèle être plus efficace.

## **1.2.2 Utilisation des liquides ioniques comme ligands**

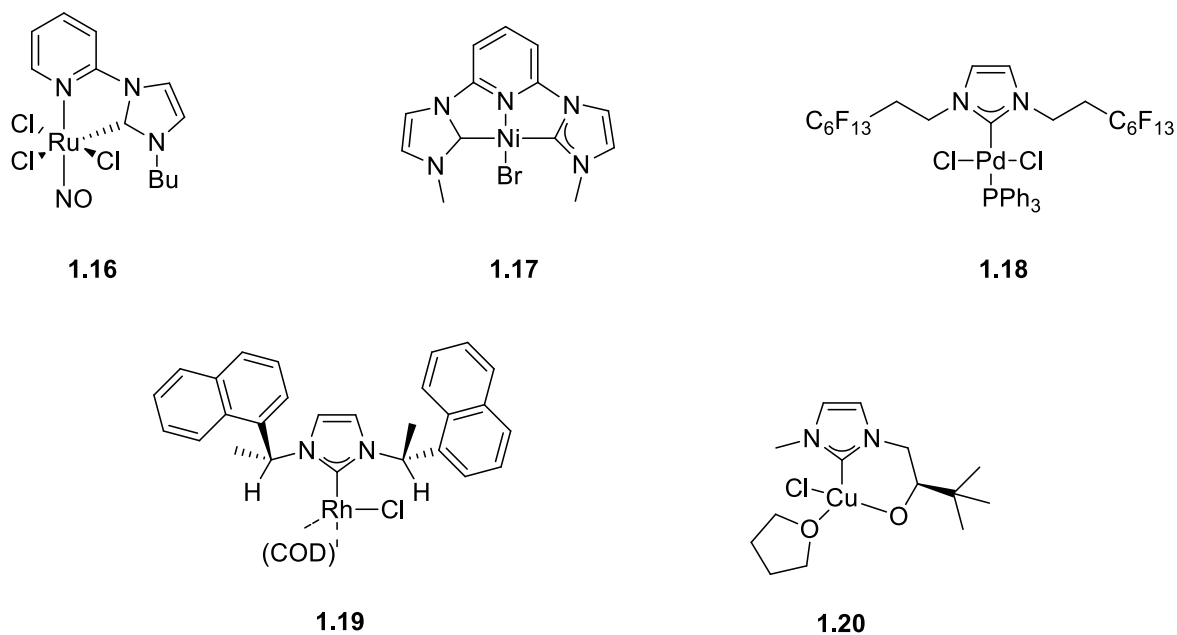
### **1.2.2.1 Les sels d'imidazolium comme précurseurs de ligands pour les métaux de transition**

L'assistance des liquides ioniques en catalyse avec des métaux de transition se traduit par la formation de carbènes N-hétérocycliques (NHCs). Les NHCs sont majoritairement dérivés des noyaux imidazole, imidazoline ou triazole.<sup>57</sup> Ce sous chapitre se concentrera uniquement sur les sels d'imidazolium comme précurseurs de ce type de composés. Ils s'obtiennent généralement par la déprotonation du H-2 par une base forte. Le premier NHC dérivé d'un sel d'imidazolium fut synthétisé par Wanzlik et Schonherr, en 1970.<sup>58</sup> Les auteurs rapportent la préparation d'un carbène dérivé du perchlorate de 1,3,4,5-tétraphénylimidazolium non isolable, mais mis en évidence par réaction avec l'eau et le dioxygène de l'air, donnant lieu à la formation d'un benzyldianil. Le premier carbène isolé a été décrit par Arduengo *et al.*<sup>59</sup> et quatre ans plus tard le groupe d'Herrmann rapporte la première utilisation en catalyse d'un complexe de palladium avec un NHC, pour un couplage de Heck (Figure 1.15).<sup>60</sup>



**Figure 1.15** : Premier NHC préparé à base d'un sel d'imidazolium (**1.14**)<sup>58</sup> et premier NHC isolé (**1.15**)<sup>59</sup>

Dès lors, de nombreux exemples de NHC dérivés des sels d'imidazolium ont été développés et ont servis de ligands pour plusieurs métaux de transition, comme le palladium, le ruthénium, le nickel ou encore le fer. La possibilité de moduler facilement à la fois l'environnement stérique du ligand, ainsi que ses propriétés électroniques, rend le design de ces espèces virtuellement infini.<sup>57</sup>



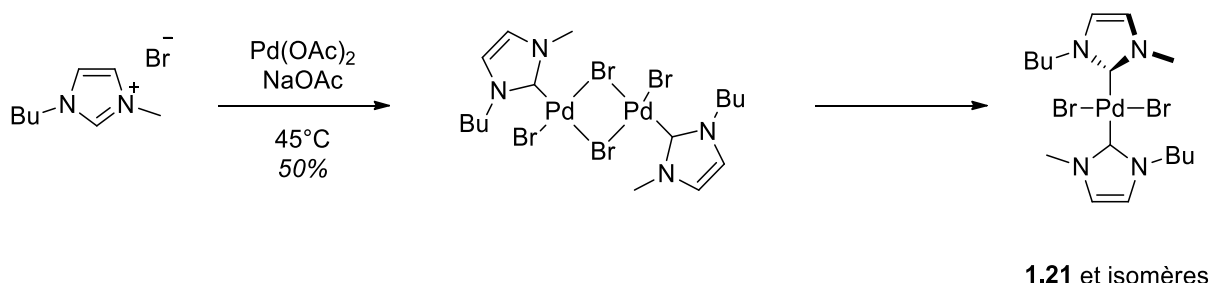
**Figure 1.16** : Quelques exemples de NHC utilisés en catalyse

Leurs applications comme NHC sont diverses du fait qu'ils peuvent former des complexes robustes avec un grand nombre de métaux de transition. Quelques exemples

choisis sont illustrés à la Figure 1.16. Ainsi, le complexe de ruthénium **1.16** a été utilisé pour des réactions d'hydrogénation de cétones aromatiques.<sup>61</sup> Le complexe **1.17** a été utilisé pour une réaction de couplage croisé de Kumada.<sup>62</sup> Le ligand fluoré **1.19** démontre une excellente activité pour le couplage croisé de Suzuki. Son squelette fluoré permet de recycler le complexe catalytique en fin de réaction, par simple filtration et lavage.<sup>63</sup> Des ligands NHCs chiraux ont également été rapportés. Le premier exemple de NHC chiral est le précurseur du composé **1.19**, décrit par Herrmann *et al.* offrant des sélectivités modestes (33%) pour l'énantiomère majoritaire pour l'hydrosilylation de l'acétophénone.<sup>64</sup> Le catalyseur **1.20** a récemment été développé par Hong *et al.* pour des réactions d'alkylation allyliques asymétriques sur des dérivés naphthalènes.<sup>65</sup>

#### 1.2.2.2 Formation de NHC *in situ* à partir des LIs utilisés comme solvants

Les LIs communément utilisés comme solvants (type [Bmim]X, X étant l'anion) ont également démontré une propension à former des NHC avec des métaux de transition *in situ*, tendant à désactiver le métal. La première mise évidence de la formation *in situ* de NHC en présence de métaux fut décrite par Seddon *et al.* en 1999.<sup>66</sup> Les auteurs rapportent une réaction de Heck en milieu liquide ionique, catalysée par de l'acétate de palladium (Pd(OAc)<sub>2</sub>). Cependant, leurs plus mauvais résultats sont obtenus avec un liquide ionique de type imidazolium en l'absence de phosphine, et l'ajout de phosphine semblait nécessaire pour assurer l'activité du palladium. Simultanément, le groupe du Professeur Herrmann décrit les sels de type imidazolium comme « un mauvais choix » pour une réaction de Heck.<sup>67</sup> La preuve de formation de NHC est apportée par Xiao *et al.*, qui parvint à isoler des complexes de palladium formés *in situ* dans du [Bmim]Br (Figure 1.17).<sup>68</sup>



**Figure 1.17** : Formation d'un NHC *in situ* dans du [Bmim]Br

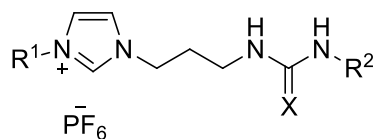
Lorsque les auteurs comparent différents liquides ioniques pour une réaction de Heck, ils remarquent que le [Bmim]Br est plus performant que le [Bmim]BF<sub>4</sub> (90% contre 36% de conversion avec le 4-bromoacétophénone). De plus, la formation de palladium « black » est observée dans le cas du [Bmim]BF<sub>4</sub> après chauffage. Le chauffage de Pd(OAc)<sub>2</sub> dans du [Bmim]Br conduit à la formation des espèces **1.21** et ses isomères, identifiés par résonance magnétique nucléaire (RMN) et spectroscopie infrarouge (IR), espèces dont la formation est plus difficile dans le [Bmim]BF<sub>4</sub>. Dans ce cas, les complexes formés améliorent la réaction.

Outre leurs applications comme solvants et ligands, les liquides ioniques peuvent être modifiés directement de façon à pouvoir devenir eux-mêmes des catalyseurs. Utilisés alors comme additifs plutôt que comme solvants, ils forment une famille de LIs à part, donc la majeure partie est constituée des sels d'imidazolium.<sup>16</sup>

### 1.3 Les sels d'imidazolium : des liquides ioniques à tâches spécifiques

La modulabilité aisée des LIs, la mise en évidence de certaines propriétés co-catalytiques et le développement des liquides ioniques chiraux ont mené la recherche vers l'apparition de liquides ioniques catalytiques, ou liquides ioniques à tâche spécifique. Dans le cadre des sels d'imidazolium, la modification du cation et/ou de l'anion peut être effectuée pour donner au LI une fonctionnalité particulière. Le premier exemple de LITS a été rapporté par les équipes de Davis et Rogers en 2001.<sup>69</sup> Le groupe rapporte plusieurs liquides ioniques

hydrophobes fonctionnalisés par des urées ou thio-urées (famille **1.22**) capables d'extraire des métaux lourds en solution aqueuse, comme le cadmium ou le mercure (Figure 1.18).



**1.22**

R<sup>1</sup> = pentyl, hexyl

R<sup>2</sup> = butyl, *p*-tol

X = O, S

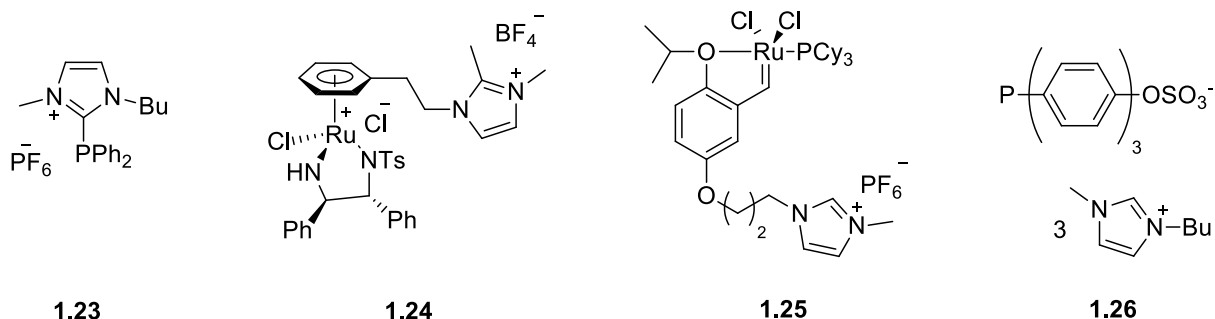
**Figure 1.18** : Exemples de LITSs utilisés par Davies et Rogers

Plusieurs autres exemples de LITS ont depuis été rapportés dans la littérature pour des applications dans le domaine des nanomatériaux,<sup>70</sup> des biocarburants,<sup>71</sup> de l'électrochimie,<sup>72</sup> et de la catalyse. Ce dernier aspect sera celui développé plus bas, car il concerne directement les travaux présentés dans ce manuscrit.

### 1.3.1 Catalyse métallique « supportée » sur liquide ionique

#### 1.3.1.1 Catalyse en phase liquide-liquide

L'utilisation des LIs comme phases liquides « immobilisatrices » en catalyse métallique est l'un des atouts majeurs de ces espèces. Le recyclage de l'espèce catalytique est facilité par extraction avec un co-solvant. Cependant, cette méthode n'exclut pas la perte partielle de catalyseur dans le co-solvant. Pour diminuer les pertes dans les procédés d'extraction, le LI est directement fonctionnalisé par le ligand pour devenir un précurseur du complexe métallique. Plusieurs exemples de sels d'imidazolium de ce type ont été rapportés dans la littérature (Figure 1.19).



**Figure 1.19** : Exemples de sels d'imidazolium comme support en catalyse métallique

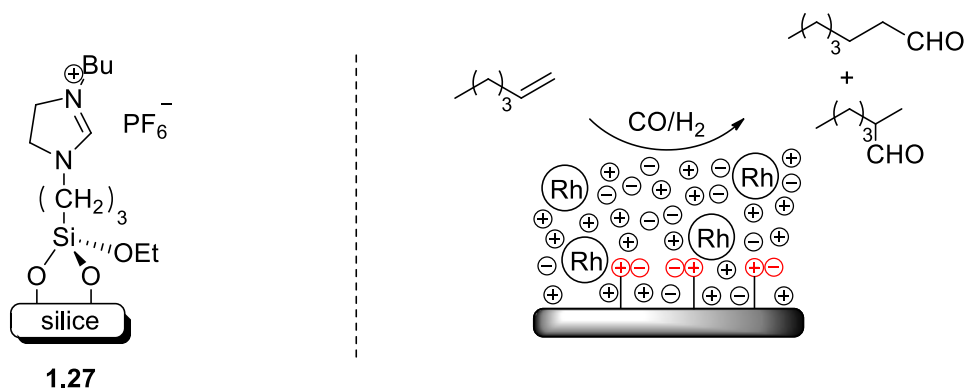
Les différents exemples illustrés à la figure 1.19 démontrent l'efficacité de cette méthode d'ancrage pour le recyclage des métaux, et leur compatibilité avec des solvants LIs. Le ligand **1.23**, décrit par Wasserscheid *et al.* est utilisé pour l'hydroformylation du 1-octène en milieu liquide ionique.<sup>73</sup> Le design de ce ligand a été pensé pour contourner la pauvre solubilité dans l'eau des substrats de ce genre de réaction lorsqu'utilisé en catalyse biphasique. En plus d'une activité élevée, les auteurs ne remarquent aucune perte notable du catalyseur dans la phase non LI après réaction. Les autres exemples démontrent les mêmes propriétés pour des réactions d'hydrogénation asymétrique (**1.24**),<sup>74</sup> ou un analogue du catalyseur de Grubbs, employé pour des réactions de métathèse (**1.25**).<sup>75</sup> Les exemples de sels d'imidazolium dont le cation a été modifié sont nombreux, mais très peu d'exemples de modification de l'anion sont présents dans la littérature. Rapporté en 2001 par le groupe de Cole-Hamilton, le liquide ionique **1.26** possède un anion dérivé d'un ligand phosphoré capable de complexer le rhodium pour catalyser des réactions d'hydroformylation pour des hydrocarbures insaturés.<sup>76</sup> Les auteurs ne rapportent que très peu ou pas de pertes du catalyseur lors du recyclage de leur milieu.

### 1.3.1.2 Catalyse hétérogène

Une des principales limitations de la catalyse liquide-liquide biphasique concerne la diffusion des espèces d'une phase à l'autre. Le développement de liquides ioniques supportés (LIS), majoritairement par des supports de type silice, a permis de pallier ce problème. En



plus d'être une version « solide » des LIs, la surface de contact entre l'espèce active et le substrat est augmentée. Les premiers LIS décrits concernent la fixation de chloroaluminates sur un support de silice pour former un catalyseur solide avec un caractère acide de Lewis.<sup>77</sup> L'application de cette méthodologie en catalyse métallique fut décrite pour la première fois en 2002 par Mehnert *et al.* (Figure 1.20).<sup>78</sup>



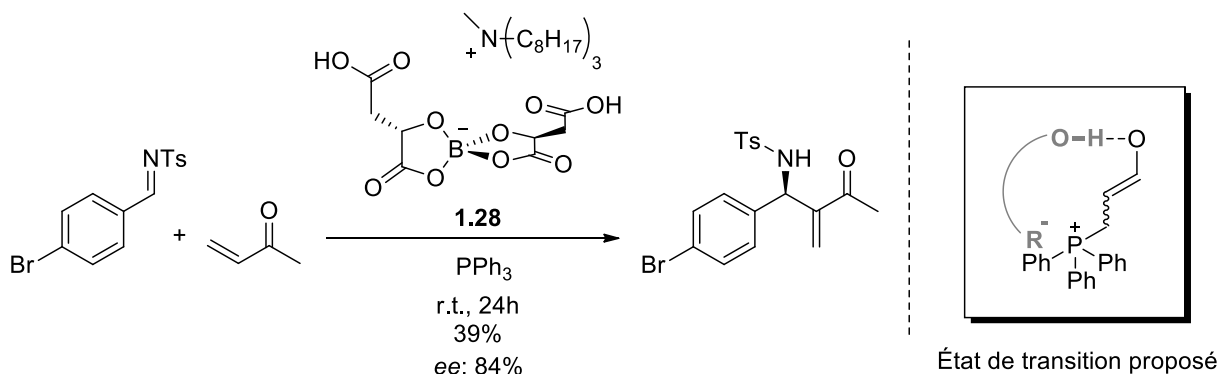
**Figure 1.20** : LIs à « multicouche » de liquide ionique utilisé par Mehnert

Le support **1.27** servira ensuite d'adsorbant pour une solution de [Bmim]PF<sub>6</sub> contenant un ligand phosphoré, nécessaire pour empêcher la perte du catalyseur en phase organique. Le [Bmim]PF<sub>6</sub> s'arrange en couches successives à la surface de la silice fonctionnalisée pour former la phase réactionnelle liquide. Les hautes performances du système sont rationalisées par une forte hausse de la surface de contact, comparativement à un système biphasique classique. C'est le seul exemple où un LI est adsorbé à la surface de la nanoparticule, en plus de sa fonctionnalisation. Le groupe de Suzuki démontre que la fonctionnalisation préalable de la silice par un LI n'est pas nécessaire à l'adsorption du [Bmim]PF<sub>6</sub> sur des billes de silice amorphes.<sup>79</sup> Du Pd(OAc)<sub>2</sub> est immobilisé sur ces nanoparticules, et le système se révèle très efficace pour des réactions de Heck, et parfaitement recyclable (aucune perte d'activité après 6 cycles de réaction).

Des exemples plus rares de systèmes catalytiques supportés utilisant du tamis moléculaire ou des polymères de type polystyrène ou polyéthylène glycol comme support solide ont également été rapportés dans la littérature.<sup>80</sup>

### 1.3.2 Les LITS-imidazolium en organocatalyse asymétrique

« L'immobilisation » de catalyseurs sur des liquides ioniques peut également se faire dans le domaine de l'organocatalyse. Considérée comme le « troisième pilier » de la catalyse, avec la catalyse organométallique et la biocatalyse, elle s'inscrit dans une optique de chimie verte en termes d'économie d'atomes, de toxicité et de faible coût. La réponse au succès mitigé des liquides ioniques chiraux a été le développement de LITS chiraux pour l'organocatalyse, qui constituent la seconde génération des LITS. L'induction de chiralité apportée par ces catalyseurs est beaucoup plus importante que celle apportée par les LICs. La transition s'est amorcée par un exemple de réaction de Baylis-Hillman, dans lequel un LIC dérivé de l'acide malique joue également le rôle de catalyseur (Figure 1.21).<sup>81</sup>

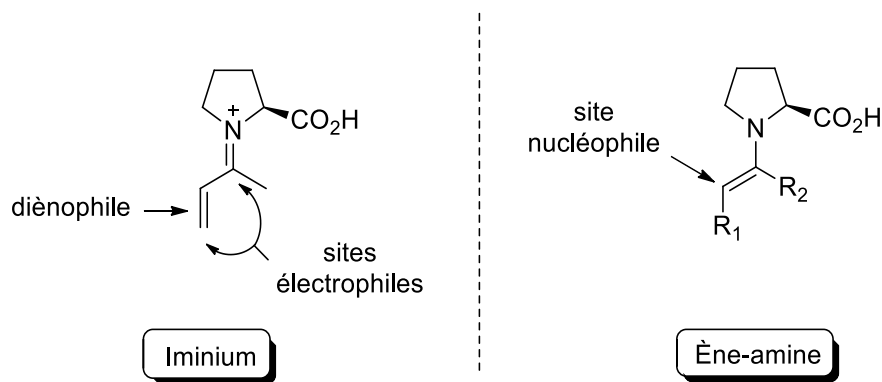


**Figure 1.21** : Premier solvant-catalyseur LI proposé par Gausepohl *et al.*

Gausepohl propose une orientation du groupement triphénylphosphine dirigée par son solvant-catalyseur par interactions électrostatiques entre l'anion du LI et la phosphine cationique. Le squelette chiral permettrait de discriminer la face d'approche de l'électrophile et de favoriser la formation d'un énantiomère majoritaire. Les résultats obtenus sont comparables à de précédents exemples de Baylis-Hillman asymétrique avec des phosphines chirales.<sup>82</sup> Cet exemple va ouvrir la porte au design de LITSs catalytiques pour l'organocatalyse.

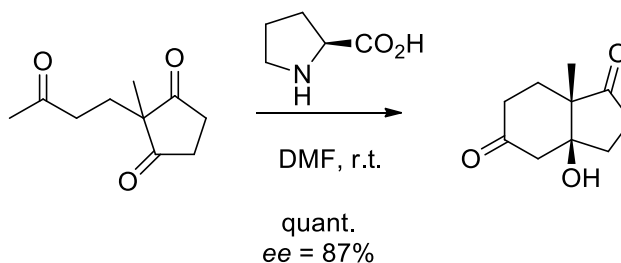
### 1.3.2.1 L'aminocatalyse

La principale modification rapportée dans le développement de ces espèces est l'incorporation d'un dérivé L-proline sur le cation ou l'anion, permettant l'activation des groupements carbonyles de deux façons différentes, mais complémentaires : la catalyse par intermédiaire « ène-amine » ou la catalyse par intermédiaire « iminium » (Figure 1.22).<sup>83</sup>



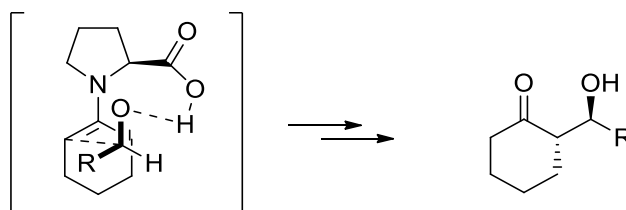
**Figure 1.22** : Les intermédiaires iminium et ène-amine

Ces deux intermédiaires possèdent des types de réactivité différente. L'intermédiaire iminium, va diminuer l'énergie de la LUMO (**L**owest **U**noccupied **M**olecular **O**rbital) du système, le rendant réactif pour des réactions d'additions conjuguées de Michael, ou bien des réactions de cycloadditions.<sup>84</sup> L'intermédiaire ène-amine va quant à lui conférer un caractère nucléophile au carbone en  $\alpha$  du groupement carbonyle, permettant des réactions d' $\alpha$ -substitutions de cétones et d'aldéhydes, asymétriques si le catalyseur utilisé est chiral. La principale application de type de catalyse est la réaction d'aldol, outil très puissant pour la formation de liens carbone-carbone. L'application asymétrique utilisant la L-proline comme catalyseur fut rapportée pour la première fois par Hajos et Parrish en 1974 (Figure 1.23).<sup>85</sup>



**Figure 1.23** : La première réaction d'aldol intramoléculaire catalysée par la L-proline

Le groupe de List a découvert en 2000 que ce type de catalyse peut s'appliquer de façon intermoléculaire pour des réactions entre aldéhydes – cétones, cétones - cétones, et aldéhydes – aldéhydes.<sup>86</sup> Dès lors, son groupe a intensivement développé la catalyse asymétrique assistée par la L-proline et étudié son mécanisme. L'origine de la sélectivité de la réaction provient de l'assistance du groupement acide carboxylique dans la direction de l'électrophile par rapport à l'intermédiaire réactif (Figure 1.24).<sup>87</sup>

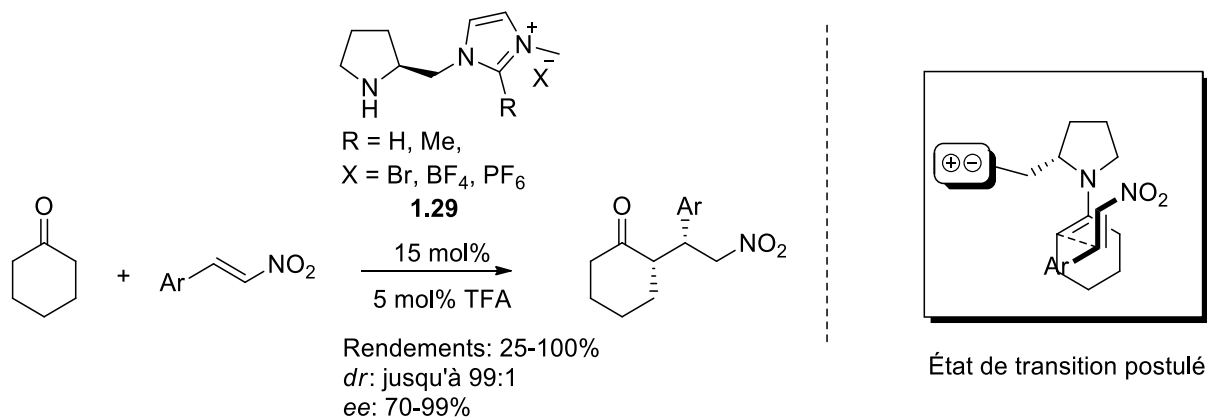


**Figure 1.24** : Origine de la sélectivité pour la réaction d'aldol intermoléculaire<sup>88</sup>

Le développement des LITSs fonctionnalisés par la L-proline se basent sur ces observations. Deux familles distinctes de LITS organocatalytiques sont à distinguer : les LITSs dont le cation est fonctionnalisé par l'entité catalytique, et les LITSs dont l'anion est le catalyseur.

### 1.3.2.2 Modification du cation des LITS

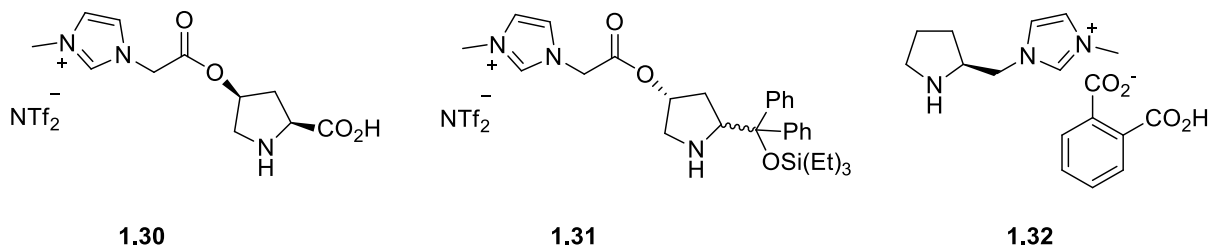
La plus grande famille des LITS organocatalytiques représente ceux possédant des cations imidazolium modifiés. Le premier exemple d'un tel catalyseur est rapporté par Luo *et al.* en 2006.<sup>89</sup> Le groupe rapporte la synthèse de différents catalyseurs dérivés de la L-proline, et leurs applications pour une réaction d'addition de Michael (Figure 1.25).



**Figure 1.25** : Premier exemple de LITS dont le cation imidazolium est modifié

Les auteurs rapportent d'excellents résultats, pour de nombreux substrats (aldéhydes et cétones), et différents accepteurs de Michael. Ils démontrent une légère influence de l'anion sur la performance des catalyseurs (meilleures performances quand X = BF<sub>4</sub>). Les auteurs remarquent que la présence d'un groupement méthyle en position 2 diminue grandement les performances du catalyseur, ce qui laisse penser que la partie imidazolium pourrait jouer un rôle d'acide de Lewis dans la réaction, mais peut aussi participer à l'approche de l'accepteur de Michael vers l'intermédiaire ène-amine, mais les auteurs ne statuent rien sur ce fait. L'état de transition proposé diffère de celui de List, car la fonction acide carboxylique de la proline n'est plus disponible, et la discrimination serait majoritairement stérique. Aucune conclusion n'est fournie par les auteurs concernant l'influence de la partie imidazolium sur la stéréochimie.

Plusieurs autres catalyseurs de ce type ont été rapportés, certains utilisant la *trans*-hydroxy-L-proline comme produit de départ pour pouvoir tirer partie et étudier l'influence de la partie acide carboxylique dans la stéréosélectivité, et profiter de sa fonctionnalisation pour obtenir des dérivés prolinol (Figure 1.26).<sup>90-91</sup>



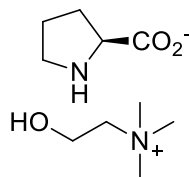
**Figure 1.26** : Différents catalyseurs dont le cation est fonctionnalisé par un dérivé L-proline

Plusieurs informations importantes ont été retenues de ces articles: lorsqu'utilisé en milieu aqueux, le catalyseur **1.30** permet une stabilisation de l'état de transition grâce à la proximité du contre-anion  $\text{NTf}_2^-$  au centre réactif, mettant ainsi en exergue l'influence du contre-anion en catalyse pour ce genre de LITS.<sup>92</sup> Décrit en 2010, le composé **1.31** s'appuie sur ces observations et fonctionnalise la partie acide carboxylique pour former un prolinol très encombré, et ainsi augmenter la sélectivité pour des réactions d'additions de Michael.<sup>93</sup> Dépendamment de la configuration de l'hydroxyprolinol utilisé, l'obtention des deux énantiomères des adduits de Michael étudiés est accessible, avec d'excellents résultats (99% de rendement, et un *ee* de 94% pour une réaction entre le nitrométhane et le *trans*-cinnamaldéhyde, pour chaque énantiomère). Le composé **1.32** représente un exemple intéressant de catalyse non-covalente coopérative. Les auteurs ont préparé une librairie de catalyseurs dont l'anion (chiral ou non) fut fonctionnalisé par un groupement acide. L'anion mime la fonction acide carboxylique de la L-proline qui n'est plus présent dans ce composé. Les résultats montrent que la présence du 1,2-monophtalate achiral améliore grandement les performances du catalyseur. Des tests réalisés avec les isomères 1,3- et 1,4-monophtalate offrent de moins bons résultats, démontrant l'implication de l'anion dans la catalyse.<sup>94</sup>

À ce jour, les catalyseurs impliquant l'anion dans le processus catalytique décrivent le rôle indirect de cet anion dans la réaction, mais il n'existe que très peu d'exemples rapportant des LITSs dont l'anion joue le rôle de catalyseur.

### 1.3.2.3 L'anion comme catalyseur dans les LITs

Lorsque j'ai commencé les travaux décrits dans ce mémoire, deux exemples seulement de catalyseur dont l'anion est l'espèce catalytique avaient été rapportés (Figure 1.27).

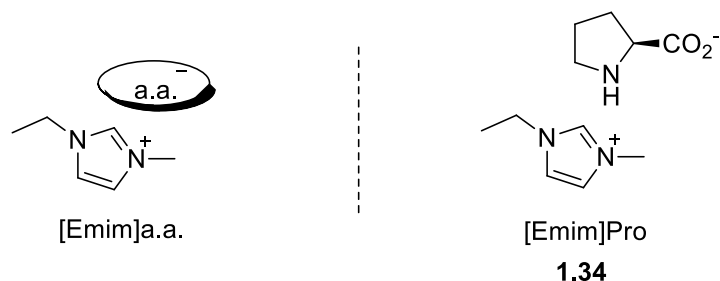


1.33

**Figure 1.27** : Premier LITs dont l'anion joue le rôle de catalyseur

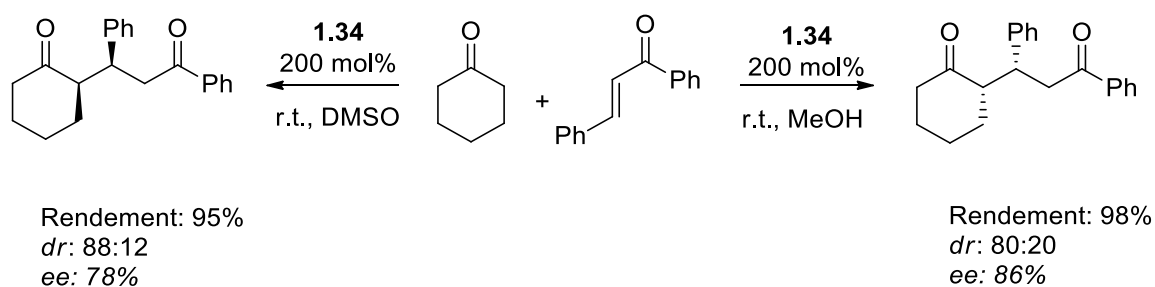
Cet exemple remonte à 2007, lorsque le groupe de Li décrit la synthèse d'un liquide ionique (le composé **1.33**) capable de catalyser une réaction d'aldol dans l'eau. Cependant, malgré l'obtention de bons rendements (jusqu'à 100%), les résultats en termes de sélectivités sont peu convaincants, les *ee* n'excédant pas 10% pour l'énantiomère majoritaire.<sup>95</sup> Toutefois, ce type de catalyse étant hétérogène, le liquide ionique dissout en phase aqueuse peut être facilement récupéré, et réutilisé dans autres cycles sans perte d'activité.

Ce manque d'études concernant ces types de LITs a motivé une partie des travaux présentés dans ce manuscrit, car une preuve de concept restait encore à établir afin de prouver l'efficacité de ce type de système en catalyse asymétrique. Cependant, le succès dans la préparation de 20 LIs de type imidazolium dont les anions sont constitués des 20 acides aminés naturels connus<sup>96</sup> a poussé en 2010 le groupe de Wang à démontrer leur activité en catalyse (Figure 1.28).<sup>97-98</sup>



**Figure 1.28** : Structure des LIs avec un anion acide aminé (gauche), et le liquide ionique étudié par Wang *et al.* (**1.34**)

Basé sur un squelette 1-éthyl-3-méthylimidazolium, la première application du composé **1.34** fut rapportée en 2008 dans le cadre d'une réaction d'addition de Michael. Les auteurs rapportent pour la première fois d'excellents résultats pour ce type de LITS, avec des rendements allant jusqu'à 98% et des *ee* atteignant 94% pour le meilleur substrat. Cependant, les auteurs choisissent d'utiliser 200 mol% de catalyseur pour de meilleures performances, ce qui contredit la notion de LITS catalytique, et rapproche le processus plus de LIC. Il est également décrit un effet de solvant sur l'énantiosélectivité (Figure 1.29).

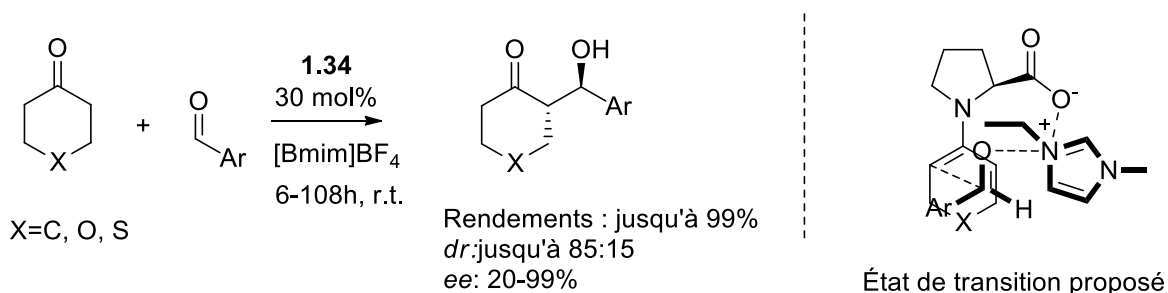


**Figure 1.29** : Énantiosélectivité dépendante du solvant

Aucune information supplémentaire n'était donnée sur l'influence du solvant concernant la sélectivité de cette réaction. Il est à noter que la réaction a été conduite dans deux solvants de type LIs, le [Bmim]BF<sub>4</sub> et le [Bmim]PF<sub>6</sub>, mais les sélectivités observées sont faibles (31% et 46%, respectivement). Le même groupe rapporte deux ans plus tard



l'utilisation du [Emim]Pro **1.34**, cette fois de façon catalytique (30 mol %) pour des réactions d'aldol (Figure 1.30)



**Figure 1.30** : Application du composé **1.34** pour des réactions d'aldol, et état de transition proposé.

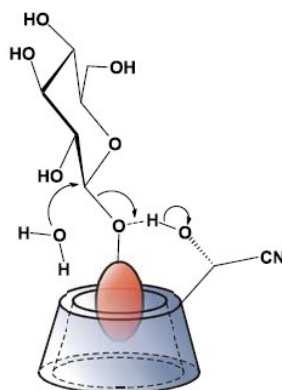
La tolérance du catalyseur est grande pour divers substrats, mêmes des aldéhydes désactivés, tels que le benzaldéhyde, ou le *p*-tolualdéhyde, qui sont transformés en adduits d'aldol avec 41% et 39% de rendement respectivement, nécessitant cependant 108 h de réaction. Afin de rationaliser la sélectivité observée, les auteurs proposent un état de transition dans lequel le noyau imidazolium remplacerait virtuellement le proton normalement présent sur la L-proline. Ainsi, par interaction électrostatique, l'imidazolium dirige l'approche de l'électrophile pour provoquer l'attaque sur sa face *Re*. C'est le premier cas de catalyse « anionique » ou l'influence du cation est rapportée.

L'induction chirale par interaction non-covalente a été démontrée à travers ces exemples de catalyse par LITS. D'autres systèmes, souvent plus complexes, exploitent ce genre d'induction chirale : les catalyseurs hybrides ou les biocatalyseurs. Ils sont issus de la combinaison de petites molécules organiques, liées covalamment ou non à une macromolécule naturelle, comme une protéine, ou encore un brin d'ADN. Ces macromolécules constituent par la suite la seconde sphère de coordination du catalyseur hybride et permettent, de par leur géométrie, d'induire de la chiralité. Ce concept sera décrit plus bas.

## 1.4 Les catalyseurs biohybrides et leurs applications en synthèse organique

Les catalyseurs biohybrides sont la combinaison de petites molécules organiques synthétiques présentant une activité catalytique, et de macromolécules naturelles, telles que les protéines. De telles espèces peuvent être comparées à des enzymes artificielles. Les enzymes possèdent des structures tridimensionnelles propres qui leur confèrent des propriétés uniques. La complexité de ces structures ainsi que la restriction qu'elles imposent sur l'activité des enzymes en font toutefois des outils limités dans le domaine de la synthèse organique. Cependant, les études de ces macromolécules ont mené la recherche à vouloir mimer de telles superstructures, afin de pouvoir mieux appréhender leurs aspects mécanistiques et mieux comprendre leurs relations structure-activité. Dans cette optique, deux chemins peuvent être empruntés : comprendre et mimer entièrement le site actif d'une enzyme en particulier, ou bien modifier chimiquement le site actif d'une enzyme et en étudier les effets.

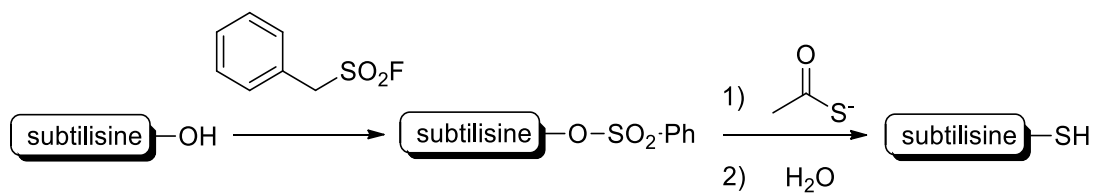
Le premier chemin se base sur le principe « clé-serrure » utilisé dans le passé pour décrire une l'enzyme : elle lie son substrat de manière spécifique, afin de permettre une transformation chimique donnée. Basé sur ce concept, le développement de mimes synthétiques de sites actifs d'enzymes, appelés « chemzymes » a été envisagé. Une cavité capable de complexer de petites molécules par le biais d'interactions non liantes est généralement fonctionnalisée par un groupement qui peut effectuer une réaction chimique donnée. Cette réaction est déclenchée par la proximité spatiale du « substrat » et du groupement catalytique (Figure 1.31).



**Figure 1.31** : Exemple de chemzyme mimant le mode d'action d'une glycosidase.. (Reprinted with permission from Ortega-Caballero, F.; Rousseau, C.; Christensen, B.; Petersen, T. E.; Bols, M., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127 (10), 3238, Copyright 2014 American Chemical Society)<sup>99</sup>

La figure 1.30 représente une chemzyme qui veut mimer la glycosidase, le substrat étudié étant le *p*-nitrophénol O-osidé, complexé par la  $\beta$ -cyclodextrine, représentée en bleu. La complexation s'effectue par le biais d'interactions hydrophobes et la proximité du substrat au groupement alcool de la cyclodextrine déclenche le clivage osidique. De nombreux exemples de chemzymes ont été rapportés dans la littérature, utilisant des macrocycles comme les cyclodextrines, mais aussi des éthers-couronnes ou des dérivés de calixarènes.<sup>27, 100</sup>

La deuxième voie pour obtenir des chemzymes s'intéresse à la modification directe des protéines ou enzymes naturelles. C'est cette voie qui a motivé la deuxième partie des travaux présentés dans ce manuscrit. La modification des enzymes existantes a été le point de départ pour la conception de nouveaux biocatalyseurs. Le premier exemple paraît dans la littérature en 1966, quand Polgar et Bender rapportent la modification chimique d'une sérine en cystéine, dans le site actif de la subtilisine, une protéase à sérine (Figure 1.32).<sup>101</sup>

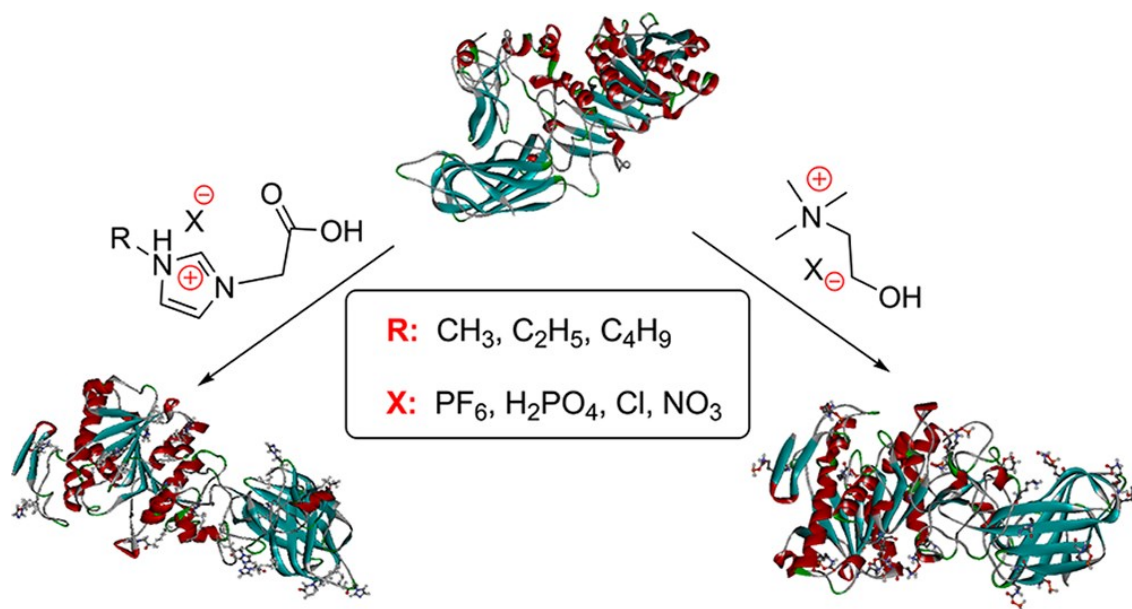


**Figure 1.32** : Premier exemple de modification chimique d'une enzyme

L'enzyme modifiée montre cependant une activité environ 1000 fois moindre par rapport à l'enzyme naturelle. Cependant, quelques mois plus tard, Neet et Koshland rapportent la même modification de la subtilisine et attribuent sa baisse d'efficacité à une possible dénaturation de l'enzyme lors de la synthèse.<sup>102</sup> L'enzyme ainsi modifiée présentait par contre des propriétés inédites: elle pouvait catalyser la formation de liens peptidiques avec les acides aminés L, de manière absolument sélective et catalytique. Dès lors, de nombreuses méthodes ont été publiées rapportant la modification spécifique d'enzymes et l'effet sur leur activité. Il est à noter que cette modification peut se faire de deux façons : soit de façon covalente, soit de façon non covalente.

### 1.4.1 Modification covalente des protéines

La modification de protéines naturelles par modification spécifique (fixation covalente de petites molécules sur certains résidus, type Ser, Cys, Lys) constitue la première méthode de création de catalyseurs biohybrides. Les premières études rapportent la modification d'enzymes existantes, plutôt que la création d'enzymes non naturelles. Ainsi, Kaiser *et al* sont les premiers à rapporter la modification spécifique de la Cys25 de la papaïne par des flavines.<sup>103</sup> Les enzymes ainsi modifiées peuvent catalyser l'oxydation de noyaux dihydronicotinamide avec une efficacité accrue, comparativement à l'enzyme native. Très récemment, le groupe de Huang a effectué la modification d'une lipase en fixant des LIs sur des résidus lysines. L'effet kosmotropique ou chaotropique des ions des LIs sur différents paramètres de l'enzyme est étudié (Figure 1.33).<sup>104</sup>

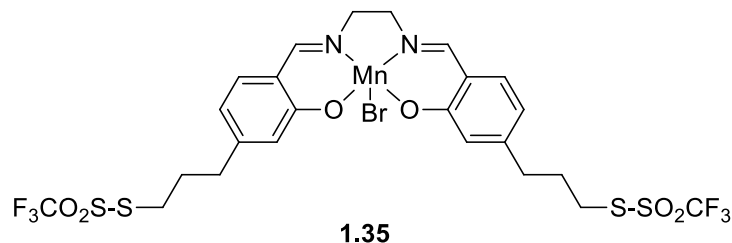


**Figure 1.33** : Fonctionnalisation des résidus lysine d'une lipase par des LIs. (Reprinted with permission from Jia, R.; Hu, Y.; Liu, L.; Jiang, L.; Zou, B.; Huang, H., *ACS Catalysis* **2013**, 3 (9), 1976. Copyright (2014) American Chemical Society)<sup>103</sup>

Dans ces exemples, un anion kosmotropique préserve la structure native de l'enzyme, et donc son activité. Ainsi, l'efficacité de la lipase est améliorée lorsque des LIs avec des anions kosmotropiques sont greffés, du fait que la conformation native de l'enzyme est mieux préservée. En revanche, la thermostabilité est assurée par des anions chaotropiques, ce qui est contradictoire avec la série de Hofmeister. Il est donc possible de moduler les propriétés existantes des enzymes en introduisant des groupements qui peuvent influencer sur sa conformation et/ou son activité.

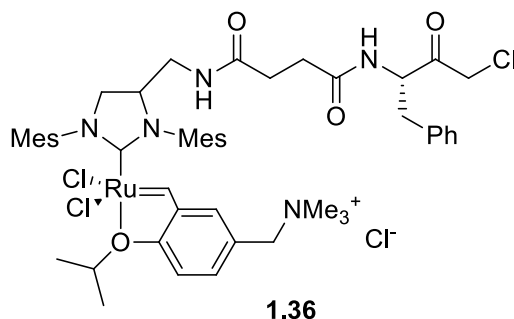
Plus récemment, l'incorporation de centres métalliques dans des protéines possédant une poche hydrophobe a également été étudiée, menant à la conception de systèmes hybrides possédant des propriétés catalytiques non naturelles. Un ligand métallique est intégré dans la protéine, encore une fois par modification chimique d'un résidu, et permet de donner au métal un environnement précis à l'intérieur de la protéine. L'utilisation de telles espèces a permis de développer des catalyseurs métalliques performants et viables en milieu aqueux. En terme de catalyse énantiosélective, un exemple important a été rapporté en 2004 par le groupe de

Lu, qui a incorporé un complexe de manganèse dans une apo-myoglobine.<sup>105</sup> Le hème présent dans la protéine est remplacé par un ligand de type salen, complexant un atome de manganèse (Mn), capable de catalyser des réactions d'oxydation (Figure 1.34).<sup>106</sup>



**Figure 1.34** : Complexe de Mn (salen) incorporé à une apomyoglobine

Comparativement aux études précédentes, lorsque le ligand **1.35** n'est fixé que par un site de liaison, les performances du catalyseur sont faibles pour des réactions de sulfoxydation, avec des *ee* n'excédant pas les 20%.<sup>107</sup> Cependant, une fois covalamment lié à la protéine par le biais des deux cystéines, la sélectivité augmente jusqu'à 51% d'*ee* pour l'oxydation du thioanisole. Ici, la rigidité conformationnelle est responsable de l'efficacité du catalyseur hybride : une diminution du nombre de conformations possibles du système conduit à de meilleures performances catalytiques. Si cette méthode de fixation covalente d'un ligand dans une protéine a l'avantage de pouvoir s'appliquer à toutes sortes de protéines puisque l'introduction de groupements fonctionnalisables dans les protéines est aisée par mutagenèse dirigée, son efficacité demeure toutefois modérée. L'inclusion non covalente de métaux ou de ligands est une alternative prometteuse, bien que le nombre de systèmes exploitables soit plus limité. Plus récemment, en 2012, le groupe de Matsuo décrit une « métathésase » en incorporant un dérivé du catalyseur de Hoveyda-Grubbs au sein de la chymotrypsine, conférant ainsi une nouvelle fonction catalytique à la protéine (Figure 1.35).<sup>108</sup>



**Figure 1.35** : Catalyseur lié à l' $\alpha$ -chymotrypsine, pour la formation d'une « métathésase » artificielle

Le composé **1.36** joue le rôle d'inhibiteur pour la protéine: l'His57 lie de manière irréversible le ligand en position  $\alpha$  de la cétone terminale, et ainsi place de manière spécifique le catalyseur dans la poche de l' $\alpha$ -chymotrypsine. Bien que la nouvelle enzyme soit active dans des réactions de métathèse pour des substrats hydrophobes, ses performances sont moindres, comparées au composé **1.36** seul.

La fixation covalente d'entités catalytiques dans des protéines peut être facilitée par l'introduction précise de groupements fonctionnalisables (Cys, Ser, etc...) par mutagenèse dirigée, car l'incompatibilité de la structure de la protéine considérée avec le catalyseur peut se révéler un obstacle quant à l'efficacité du système. Une alternative repose sur l'encapsulation non-covalente d'unités catalytiques au sein de protéines. L'utilisation de systèmes naturels complémentaires permet de bénéficier d'une association idéale et unique entre la protéine et le ligand invité, éliminant les problèmes de fonctionnalisation non-spécifiques et garantit un environnement défini à l'intérieur de la protéine.<sup>109</sup>

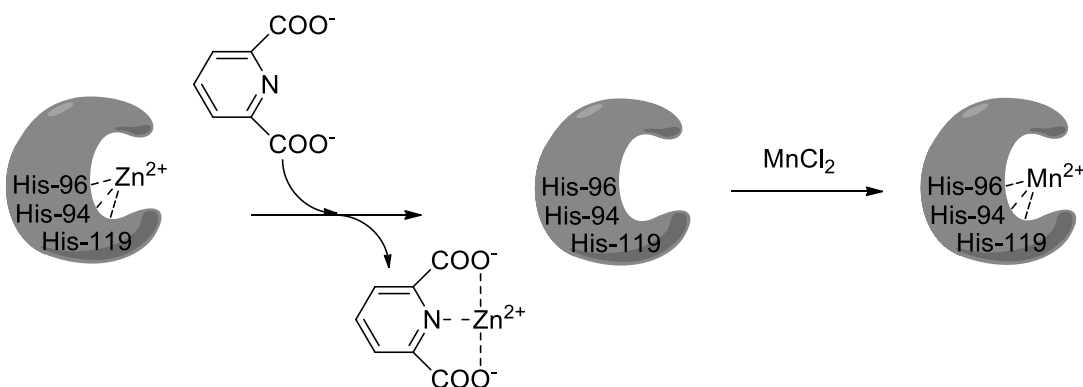
#### 1.4.2 Incorporation non-covalente de l'entité catalytique

Cette stratégie a été largement appliquée dans la conception de métalloenzymes artificielles. Deux méthodes sont à distinguer : l'inclusion de métaux de transition directement sur un ou plusieurs sites coordinants d'une protéine, ou bien l'encapsulation d'un ligand à l'intérieur de la cavité d'une protéine, reposant sur l'utilisation de « couples » déjà existants, comme le système biotine-avidine.<sup>110</sup>

### 1.4.2.1 Incorporation du métal directement dans la protéine

Environ un tiers des protéines existantes possèdent un ou plusieurs cofacteurs métalliques, qui peuvent être responsables de la structure et/ou de l'activité de ces protéines.<sup>111</sup> La mutagenèse dirigée, ainsi que l'élucidation des structures protéiques par diffraction des rayons X, a permis une construction rationnelle des métalloprotéines. Deux stratégies sont alors envisageables : l'échange du métal natif de la protéine par un autre centre métallique, ou bien un métal incorporé directement dans la protéine, qui se lie aux résidus présents disponibles.

Un exemple pionnier dans ce domaine est rapporté par Kaiser *et al.* qui décrit l'échange de l'atome de zinc (Zn) d'une carboxypeptidase, par un atome de cuivre.<sup>112</sup> Même si l'enzyme perd son activité native, la conformation de son site actif est globalement maintenue, et elle démontre des propriétés d'oxydase pour l'oxydation de l'acide ascorbique. En 2006, le groupe de Kazlauskas applique cette même méthode à l'anhydrase carbonique, une métalloprotéine à Zn. Par dialyse, les auteurs ôtent l'atome de Zn et le remplacent par un atome de manganèse (Mn) (Figure 1.36).<sup>113</sup>



**Figure 1.36** : Échange Zn-Mn par dialyse dans une anhydrase carbonique

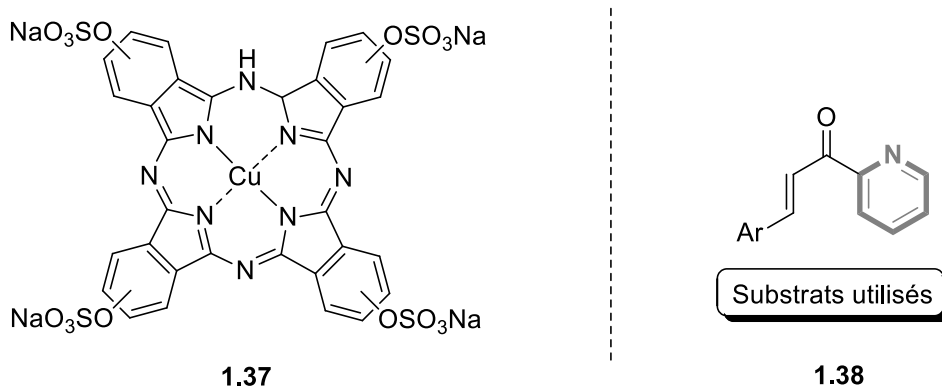
Le système se révèle actif pour des réactions d'oxydation, comparables à des peroxydases naturelles. Son utilisation en catalyse asymétrique est également intéressante : elle se révèle capable de catalyser l'époxydation du *p*-chlorostyrène, avec un *ee* allant jusqu'à 67% pour l'énantiomère majoritaire. Cependant, les conversions sont faibles (1-12%),



attribuables à une perte d'activité rapide de l'enzyme artificielle. L'introduction de groupements métalliques étrangers pourrait causer des modifications dans les structures secondaires et tertiaires des protéines, et ainsi modifier leurs propriétés en solution.

#### 1.4.2.2 Introduction des complexes métal-ligands dans la protéine

Les hémoprotéines sont des candidats de choix pour l'incorporation de complexes métalliques dans leur structure. L'obtention de l'apoprotéine (protéine sans son hème) permet l'introduction subséquente d'un ligand similaire, complexé à un métal. Ce ligand peut également être modifié pour avoir une meilleure affinité de liaison avec la protéine, et ainsi mener à la formation de catalyseurs non-naturels actifs et efficaces. Cette méthode permet également la liaison spécifique d'un métal à l'intérieur de la protéine.<sup>114</sup> Le groupe de Reetz rapporte en 2006 la formation d'une « Diels-Aldérase », en incorporant le dérivé de phtalocyanine **1.37** dans une albumine (Figure 1.37).<sup>115</sup>



**Figure 1.37** : Complexe Cu-phtalocyanine (**1.37**) utilisé par Reetz pour la formation d'une « Diels-Aldérase » et le type de substrats utilisés (**1.38**)

Les dérivés phtalocyanines sont connus pour lier non-covalamment les albumines de sérum bovin (BSA) et humain (HSA). Jouant alors le rôle d'un acide Lewis chiral, la métalloenzyme catalyse des réactions de Diels-Alder avec des bonnes conversions (71-91%) et des *ee* excellents (jusqu'à 98% pour l'énantiomère majoritaire). Ce genre de système peut constituer un tremplin pour l'incorporation d'autres métaux dans ces protéines : une fois la méthodologie d'incorporation développée, la complexation de différents centres métalliques

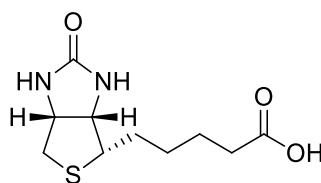
peut être étudiée. Cependant, la présence du groupement pyridyl en position  $\alpha$  du carbonyle des diénophiles utilisés (**1.38**) semble indispensable pour de bonnes conversions, probablement à cause d'interactions avec des résidus à l'intérieur de la protéine.

Ces systèmes présentent toutefois l'inconvénient de ne pouvoir incorporer dans les apoprotéines que des ligands dont la structure s'approche de celle des groupements prosthétiques des protéines natives. Le choix du métal utilisé est donc limité et réduit ainsi la diversité d'enzymes artificielles pouvant être développées, la plupart mimant l'action d'enzymes déjà existantes. L'utilisation du système biotine-avidine a su contourner cette limitation et a amené à la conception d'enzymes artificielles capable de catalyser des réactions non biologiques.

## 1.5 Le système biotine-avidine

### 1.5.1 Caractéristiques structurales et propriétés de l'avidine

L'avidine est une glycoprotéine tétramérique constituée de quatre monomères identiques, possédant une masse totale d'environ 66 kDa. Présente dans le blanc d'œuf, elle possède la particularité de former avec la vitamine B8, ou la D-biotine (**1.39**), le complexe non covalent le plus fort connu dans la Nature, avec une constante d'association  $K_a$  de l'ordre de  $10^{15} \text{ M}^{-1}$  (Figure 1.38).<sup>116</sup>

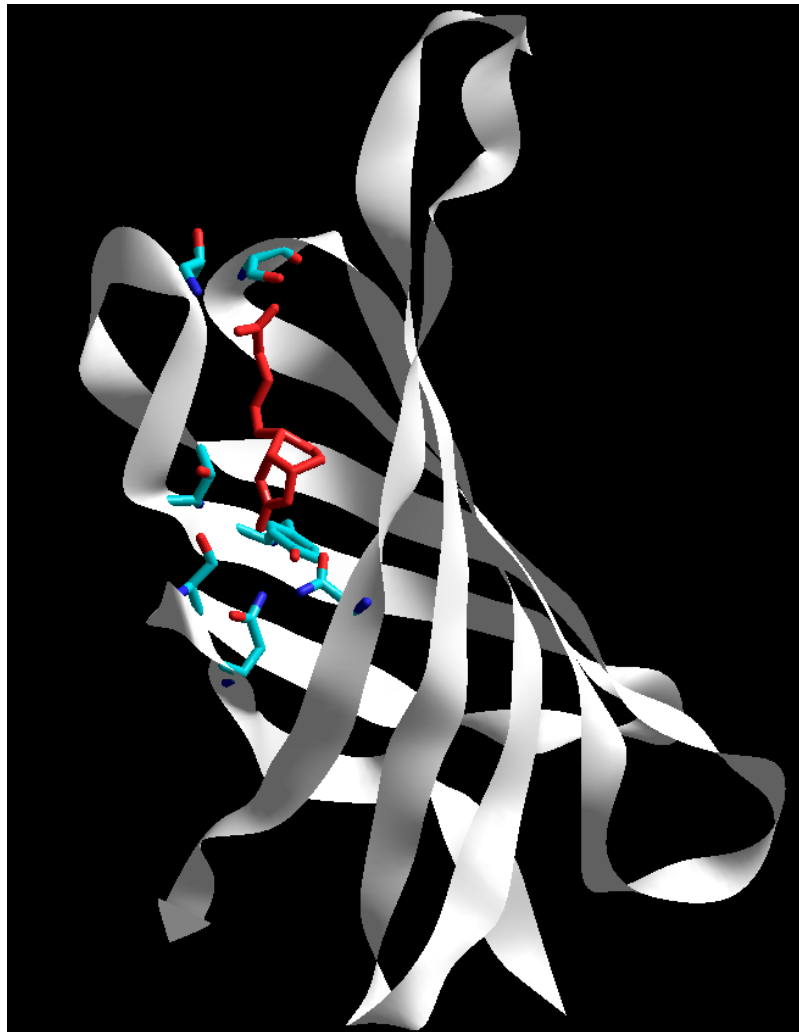


**1.39**

**Figure 1.38** : Structure de la vitamine B8, ou D-biotine

Chaque monomère de l'avidine compte 128 acides aminés. Chacun monomère est formé de huit feuillets  $\beta$  antiparallèles, s'arrangeant entre eux par l'intermédiaire d'environ

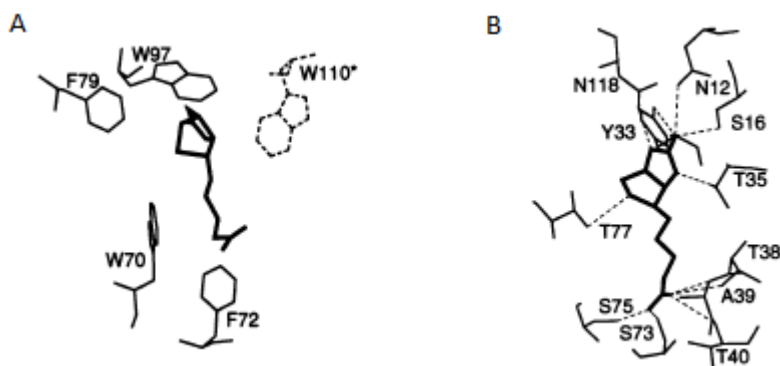
60 ponts hydrogène, conférant à la protéine une structure tertiaire tubulaire et permettant la formation d'un site de liaison pour la biotine à l'intérieur du « tonneau » (Figure 1.39).



**Figure 1.39** : Complexe entre un monomère de l'avidine (blanc) et la D-biotine (rouge). Les chaînes latérales des principaux acides aminés liant la D-biotine par l'intermédiaire de ponts hydrogène ont montrées (réalisé avec HyperChem 7.5)

L'avidine est constituée de dimères de dimères qui s'assemblent pour former un tétramère d'un volume d'environ 56x50x40 ångström (Å). Chaque monomère est capable de lier une molécule de biotine. Le volume de la cavité du site de liaison, estimé à 293 Å, corrèle avec le volume de la biotine (242 Å). L'élucidation de la structure cristalline de l'avidine a permis d'identifier les interactions responsables de la complexation de la D-biotine. Le fond

de la cavité du monomère possède un grand nombre de résidus donneurs ou accepteurs de ponts hydrogène, qui lient la partie imidazolidone du bicycle (Figure 1.40).<sup>117</sup>



**Figure 1.40** : Représentation du site actif de l'avidine. A) Interactions hydrophobes entre la D-biotine et l'avidine; B) Interactions de type ponts hydrogène entre la D-biotine et l'avidine<sup>110</sup>

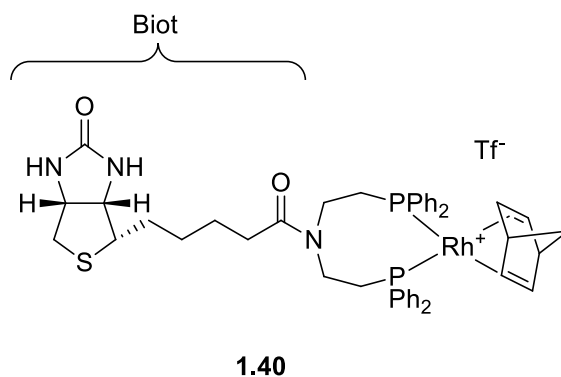
Ainsi, chaque molécule de D-biotine est stabilisée à l'intérieur de la cavité par plusieurs ponts hydrogène directs: les résidus Asn12, Ser13 et Tyr33 lient le groupement carbonyle du bicycle, tandis que les résidus Thr35 et Asn18 forment des ponts hydrogène avec respectivement les azotes N-1 et N-3. L'atome de soufre interagit avec le résidu Thr77, et la partie acide carboxylique se lie plus proche de l'ouverture de la cavité, à travers les résidus Ala39, Thr40 et Ser75. Le noyau bicyclique est également en contact avec des résidus hydrophobes (Trp70, Phe79, et Trp97). Un résidu Trp110 (Figure 1.38, A), faisant partie du monomère complémentaire de la paire de monomères considérée, joue également un rôle dans la liaison de la biotine. Son rôle est non négligeable, car lorsque l'acide aminé est changé pour une lysine, la fixation de la biotine s'effectue de manière réversible. De plus, ce changement induit la formation de la protéine sous forme dimérique, plutôt que tétramérique.<sup>118</sup>

La D-biotine présente donc une très forte affinité pour l'avidine et un de ses analogues, la streptavidine, une protéine qui présente seulement 33% de similitudes de sa séquence d'acides aminés, mais possède des secondaires tertiaires et quaternaires semblables.<sup>119</sup> Puisque la fonctionnalisation de la D-biotine par la fonction acide

carboxylique ne change en rien le réseau d'interactions responsables de la complexation dans l'avidine, l'utilisation de ce système pour l'introduction de molécules synthétiques dans la cavité de ces deux protéines a été largement exploitée dans la conception d'enzymes artificielles.

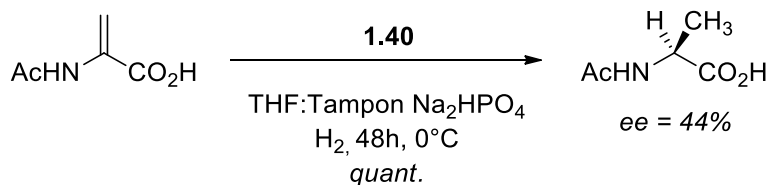
### 1.5.2 Le système biotine-avidine pour la conception de catalyseurs biohybrides

L'exploitation du complexe biotine-avidine comme catalyseur chiral fut décrite pour la première fois en 1978 par Whitesides et Wilson, qui postulent que l'encapsulation d'un catalyseur achiral dans une protéine permettrait de fournir à l'espèce catalytique un environnement chiral défini. Les auteurs fonctionnalisent donc la D-biotine par un ligand de type diphosphine, auquel sera complexé un atome de Rh (**1.40**) (Figure 1.41).<sup>120</sup>



**Figure 1.41** : Ligand biotinylé utilisé par Whitesides *et al.* pour la conception d'une hydrogénase artificielle

L'activité de l'hydrogénase artificielle a été testée dans la réduction de l'acide  $\alpha$ -acétamidoacrylique en *N*-acétylalanine (Figure 1.42)



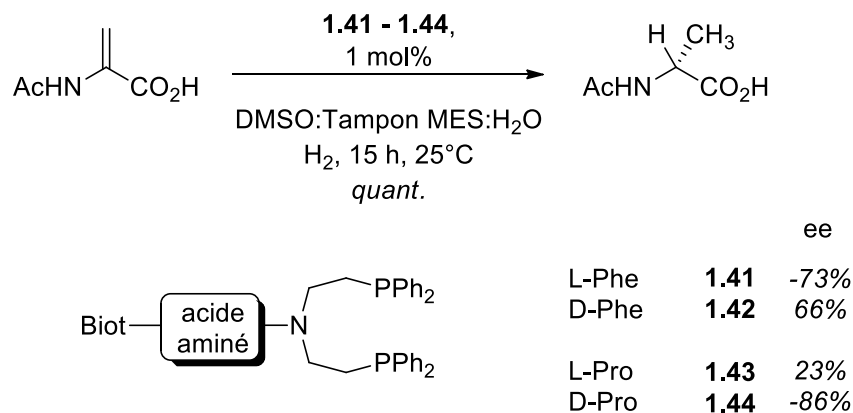
**Figure 1.42** : Réduction de l'acide  $\alpha$ -acétamidoacrylique par l'hydrogénase artificielle

La *N*-acétylalanine est obtenue avec un excès énantiomérique de 44%, ce qui valide l'hypothèse d'une induction chirale par la seconde sphère de coordination du catalyseur biohybride. Dès lors, le groupe de Ward a concentré une partie de sa recherche à l'optimisation de ce système, et son application pour la conception de nouveaux catalyseurs biohybrides. Ward propose alors deux voies d'optimisation des catalyseurs contenant le complexe biotine-avidine : une méthode d'optimisation chimique, qui consiste à modifier la structure du ligand contenant la biotine, combinée à une méthode d'optimisation génétique, pour modifier sélectivement des acides aminés de l'avidine, et modifier ainsi la géométrie de la cavité interne de la protéine. Les premiers tests du groupe de Ward se sont attardés au développement d'hydrogénases artificielles basées sur les résultats de Whitesides.

### 1.5.2.1 Optimisation chimique : influence de la structure du ligand

En utilisant les conditions identiques décrites par Whitesides *et al.*, Ward proposa l'encapsulation du composé **1.40** dans la streptavidine, possédant une cavité plus profonde, et rapporta une efficacité accrue, comparativement au catalyseur de Whitesides, la sélectivité en faveur de l'énantiomère (*S*) augmentant à 92%.<sup>121</sup>

En 2005, le groupe rapporte l'importance de la structure du ligand et son influence sur l'efficacité du catalyseur, en préparant une hydrogénase artificielle modulable, permettant d'obtenir sélectivement chaque énantiomère de la *N*-acétylalanine, dépendamment du ligand utilisé (Figure 1.43).<sup>122</sup>

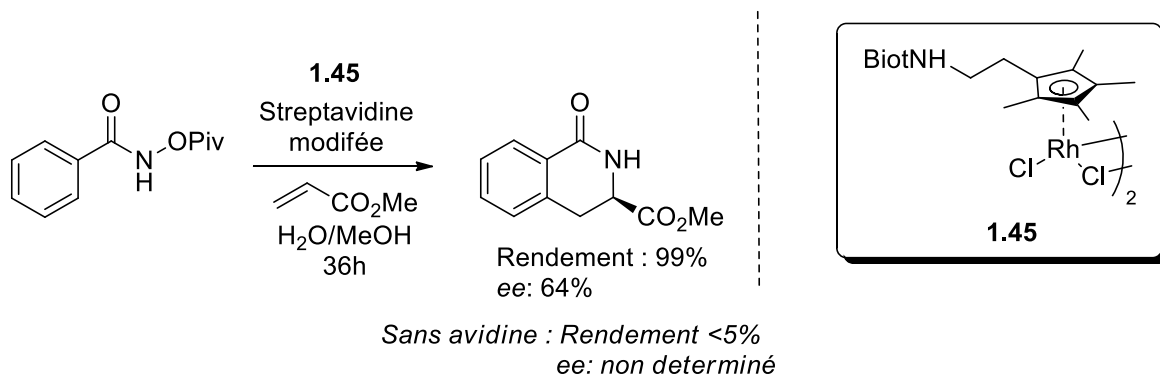


**Figure 1.43** : Insertion d'un espaceur acide aminé dans la structure d'un ligand biotinylé

Les auteurs remarquent que la configuration absolue de l'espaceur phénylalanine influe directement sur l'énantiomère obtenu. Ainsi, les composés **1.41** et **1.42**, possédant une phénylalanine comme espaceur, permettent d'obtenir les deux énantiomères, avec des sélectivités semblables : le ligand **1.41** permettra l'obtention de l'énantiomère (*S*) de la *N*-acétylalanine avec un *ee* de 73%, et le ligand **1.42** mènera à l'obtention de l'énantiomère (*R*) avec un *ee* de 66%. L'utilisation de ligands plus rigides (ligands **1.43** et **1.44**) produit cependant des cas de « match-mismatch », car si le ligand **1.44** mène à l'énantiomère (*S*) avec un *ee* de 86 %, le ligand **1.43** n'offre qu'une faible sélectivité pour l'autre énantiomère (23%).

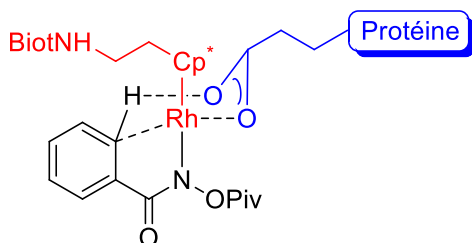
### 1.5.2.2 Optimisation génétique : influence de la géométrie du site actif

Plus récemment, la modification génétique de la protéine, combinée à l'optimisation chimique, a permis l'obtention de catalyseurs biohybrides très efficaces et sélectifs. Ainsi, par évolution dirigée, les résidus Ser112 et Lys121 ont été identifiés proches du site actif et très influents sur la catalyse, car ils gouvernent non seulement la conformation du catalyseur dans la protéine, mais déterminent également l'approche du substrat vers le métal.<sup>123</sup> Très récemment, Rovis et Ward ont montré que la modification spécifique de la streptavidine pouvait grandement favoriser l'occurrence d'une réaction donnée (Figure 1.44).<sup>124</sup>



**Figure 1.44** : Benzannulation catalysée par un biocatalyseur basé sur le système avidine - D-biotine

L'utilisation de la streptavidine native ne permet qu'une faible conversion (inférieure à 5%) après 36 heures de réaction. Les résidus Ser112 et Lys121 ont été identifiés par modélisation moléculaire comme étant les résidus les plus proches du site catalytique. Des études mécanistiques ont montré que la réaction de benzannulation montrée à la Figure 1.43 nécessite une base pour permettre l'insertion du Pd dans le lien C-H à fonctionnaliser.<sup>125</sup> Ward *et al.* ont donc introduit dans la cavité de la protéine un groupement carboxylate, par le biais d'un résidu glutamate, à la position 121, en même temps qu'un résidu lysine en position 118, ce qui a provoqué une forte augmentation de l'activité du biocatalyseur (Figure 1.45).

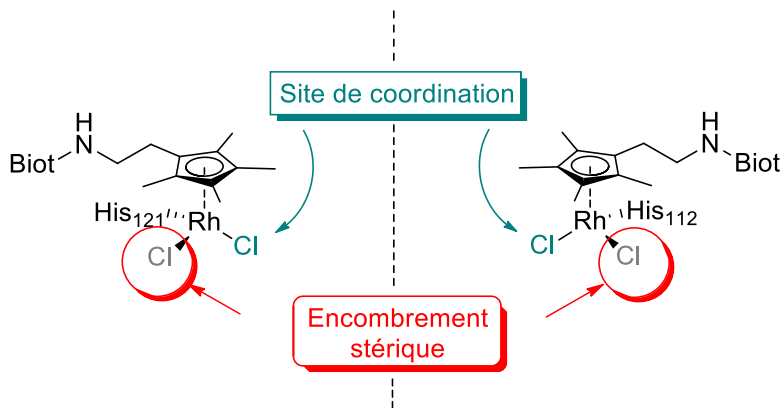


**Figure 1.45** : Assistance de la cavité de la streptavidine dans la réaction de benzannulation

La connaissance précise du site catalytique permet donc de modifier l'architecture de la protéine afin de favoriser une réaction donnée. Ainsi, en introduisant un résidu chélatant



(His), aux positions 112 ou 121, les auteurs discriminent les faces d'approches du substrat vers le centre métallique, permettant d'inverser l'énantiosélectivité de la réaction, dépendamment du résidu modifié (Figure 1.46).<sup>126</sup>

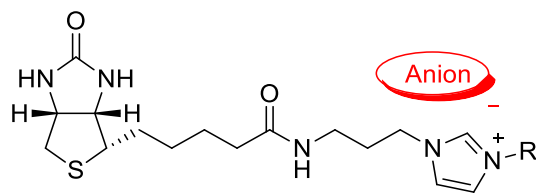


**Figure 1.46** : Discrimination de la face d'approche du substrat vers le Rh par fixation double du catalyseur dans la cavité de la streptavidine

La combinaison de macromolécules biologiques comme seconde sphère de coordination pour des catalyseurs synthétiques se révèle donc efficace en catalyse asymétrique. La modification de la séquence d'acides aminés à l'intérieur du site actif de la protéine permet de modifier plus précisément l'activité et l'efficacité du biocatalyseur envers une réaction spécifique. La porte est alors ouverte à la conception d'enzymes artificielles efficaces n'ayant pas d'homologues naturels. Il faut noter qu'aucun catalyseur biohybride n'avait été rapporté dans la littérature comme étant actif en milieu liquide ionique.

## 1.6 Description de nos projets de recherche

Basé sur les concepts présentés jusqu'ici, les travaux présentés dans ce mémoire portent sur le développement de nouveaux types de catalyseurs biohybrides stables en milieu liquide ionique. Inspiré par les travaux du groupe de Ward, l'idée initiale de notre projet était la conception d'un sel d'imidazolium dont le cation est fonctionnalisé par une unité biotine, et dont l'anion est l'entité catalytique. Cette stratégie permettrait, par synthèse convergente, de préparer plusieurs sels catalytiques, en fonction des anions utilisés, possédant le même axe cationique (Figure 1.47)

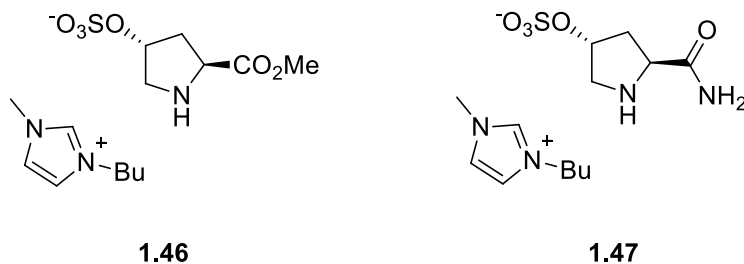


**Figure 1.47** : Sel d'imidazolium catalytique possédant un axe cationique biotinylé

La synthèse, l'incorporation de ces sels dans l'avidine et l'étude des propriétés des catalyseurs biohybrides ainsi formés furent entreprises.

### 1.6.1 Sels d'imidazolium dont l'anion est l'entité catalytique.

Au commencement des travaux présentés ci-après, un seul exemple de liquide ionique dont l'anion jouait le rôle du catalyseur avait été rapporté, et la preuve de concept restait encore à établir. Ainsi, préalablement au projet initial, la conception et l'étude de ce type de sels pour la catalyse a dû être effectuée. Deux sels d'imidazolium possédant un cation 1-méthyl-3-butylimidazolium ont été préparés (Figure 1.48).



**Figure 1.48** : Sels d'imidazolium à tâche spécifique utilisés en catalyse

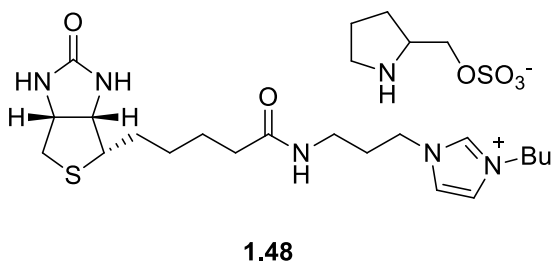
L'utilisation de la *trans*-4-hydroxy-L-proline comme précurseur d'anion permet de localiser la charge négative de l'anion sur le groupement hydroxyle, et tirer parti de la présence de la fonction acide carboxylique pour influencer sur la réactivité des catalyseurs. Le composé **1.46** a donc un anion dont la fonction acide est modifiée en ester, offrant une contrainte stérique supplémentaire, tandis que le composé **1.47** dispose d'un groupement amide donneur/accepteur de ponts hydrogène. Leur réactivité a été testée pour des réactions

d'aldol et d'addition de Michael, en milieu liquide ionique. La rationalisation de leur mode d'action en milieu liquide ionique a été faite à travers différentes études méthodologiques, permettant de postuler de possibles états de transition pour chaque réaction. La chiralité intrinsèque des anions a également permis d'étudier la sélectivité apportée par ce type de catalyseurs.

Une fois la preuve de concept effectuée, le projet principal a consisté à préparer un axe cationique auquel a été greffé une entité biotine, portant comme contre-anion un dérivé pyrrolidine achiral.

### 1.6.2 Sels d'imidazolium biotinylés

Les synthèses indépendantes de l'anion et du cation du composé **1.48** ont donc été effectuées, et leur comportement dans des réactions d'aldol en milieu liquide a été étudié (Figure 1.49).



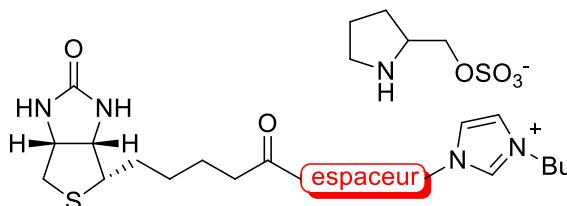
**Figure 1.49** : Premier sel d'imidazolium biotinylé utilisé

#### 1.6.2.1 Comportement du catalyseur biohybride en solution

Étant donnée la tolérance de biomolécules vis-à-vis des liquides ioniques, le comportement du catalyseur biohybride en milieu liquide ionique a donc été étudié par dichroïsme circulaire (CD). Le milieu réactionnel a été partitionné entre une phase aqueuse tamponnée et un liquide ionique. La proportion de liquide ionique utilisée s'est montrée critique dans l'efficacité du catalyseur. L'influence d'autres paramètres extérieurs, tels que le pH ou la température, facteurs importants dans le comportement des biomolécules en solution, a également été étudiée.

### 1.6.2.2 Influence de la structure du cation

Le composé **1.48** a servi de modèle pour une seconde génération de sels d'imidazolium biotinylés. Plusieurs espaceurs différents ont été introduits entre la partie biotine et la partie imidazolium, afin de conférer au nouveau catalyseur des propriétés différentes, mais également afin de placer l'anion à différents endroits à l'intérieur de la protéine (Figure 1.50).



**Figure 1.50** : Seconde génération de sels d'imidazolium biotinylés

Une chaîne alkyle plus longue (6 carbones) a été insérée pour donner une plus grande flexibilité au sel à l'intérieur de la protéine. Dans une autre optique, trois acides aminés naturels ont également été introduits entre la partie biotine et la partie imidazolium : la L-proline, possédant une conformation cyclique rigide qui limite ainsi le nombre de conformations possibles du catalyseur dans la cavité de l'avidine, la L-phénylalanine pouvant interagir avec des résidus aromatiques dans la cavité par le biais d'interactions  $\pi$ , et le L-tryptophane, permettant, en plus des interactions  $\pi$ , la formation de ponts hydrogène au sein de la protéine. Ces trois acides aminés étant chiraux, l'influence d'un centre chiral proche du site catalytique a aussi été étudiée.

### 1.6.2.3 Influence de la structure de l'anion

Une librairie d'anions a ensuite été synthétisée, afin de comprendre la coopérativité entre l'anion et la protéine. L'introduction de groupements chiraux, aromatiques, rigides ou flexibles a été réalisée et étudiée dans la cadre de la réaction d'aldol. La tolérance du catalyseur biohybride envers d'autres substrats a également été investiguée.

## 1.7 Bibliographie

- 1 Anastas, P.; Eghbali, N., *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39 (1), 301.
- 2 Walden, P., *Bull. Acad. Imper. Sci. St. Petersbourg* **1914**, 8, 405.
- 3 Hussey, C. L.; King, L. A.; Carpio, R. A., *J. Electrochem. Soc.* **1979**, 126 (6), 1029.
- 4 Carpio, R. A.; King, L. A.; Lindstrom, R. E.; Nardi, J. C.; Hussey, C. L., *J. Electrochem. Soc.* **1979**, 126 (10), 1644.
- 5 Hallett, J. P.; Welton, T., *Chem. Rev.* **2011**, 111 (5), 3508.
- 6 Welton, T., *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2071.
- 7 Koel, M., *Crit Rev.: Anal. Chem.* **2005**, 35 (3), 177.
- 8 Li, Z.; Jia, Z.; Luan, Y.; Mu, T., *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **2008**, 12 (1), 1.
- 9 Zhao, H., *Chem. Eng. Comm.* **2006**, 193 (12), 1660.
- 10 Naushad, M.; Alothman, Z. A.; Khan, A. B.; Ali, M., *Int. J. Biol. Macromol.* **2012**, 51 (4), 555.
- 11 Noujeim, N.; Leclercq, L.; Schmitzer, A. R., *J. Org. Chem.* **2008**, 73 (10), 3784.
- 12 Elie, C. R.; Noujeim, N.; Pardin, C.; Schmitzer, A. R., *Chem. Commun.* **2011**, 47 (6), 1788.
- 13 Noujeim, N.; Samsam, S.; Eberlin, L.; Sanon, S. H.; Rochefort, D.; Schmitzer, A. R., *Soft Matter* **2012**, 8 (42), 10914.
- 14 Wilkes, J. S.; Zaworotko, M. J., *Chem. Commun.* **1992**, 965.
- 15 Deetlefs, M.; Seddon, K. R., *Green Chem.* **2003**, 5 (2), 181.
- 16 Lee, S. G., *Chem. Commun.* **2006**, (10), 1049.
- 17 Maton, C.; De Vos, N.; Stevens, C. V., *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42 (13), 5963.
- 18 Boon, J. A.; Levisky, J. A.; Pflug, J. L.; Wilkes, J. S., *J. Org. Chem.* **1986**, 51 (4), 480.
- 19 Amyes, T. L.; Diver, S. T.; Richard, J. P.; Rivas, F. M.; Toth, K., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126 (13), 4366.
- 20 Jiang, L.; Shan, F.; Li, Z.; Zhao, D., *Molecules* **2012**, 17 (10), 12121.
- 21 Hashimoto, T.; Urban, S.; Hoshino, R.; Ohki, Y.; Tatsumi, K.; Glorius, F., *Organometallics* **2012**, 31 (12), 4474.
- 22 Enders, D.; Niemeier, O.; Henseler, A., *Chem. Rev.* **2007**, 107 (12), 5606.
- 23 Myles, L.; Gore, R. G.; Gathergood, N.; Connon, S. J., *Green Chem.* **2013**, 15 (10), 2740.
- 24 Gore, R. G.; Myles, L.; Spulak, M.; Beadham, I.; Garcia, T. M.; Connon, S. J.; Gathergood, N., *Green Chem.* **2013**, 15 (10), 2747.
- 25 Gannon, T. J.; Law, G.; Watson, P. R.; Carmichael, A. J.; Seddon, K. R., *Langmuir* **1999**, 15 (24), 8429.
- 26 Carmichael, A. J.; Hardacre, C.; Holbrey, J. D.; Nieuwenhuyzen, M.; Seddon, K. R., *Molecular Physics* **2001**, 99 (10), 795.
- 27 Noujeim, N.; Leclercq, L.; Schmitzer, A. R., *Curr. Org. Chem.* **2010**, 14, 1500.
- 28 Parvulescu, V. I.; Hardacre, C., *Chem. Rev.* **2007**, 107 (6), 2615.
- 29 Jaeger, D. A.; Tucker, C. E., *Tetrahedron Lett.* **1989**, 60 (14), 1785.
- 30 Aggarwal, A.; Lancaster, N. L.; Sethi, A. R.; Welton, T., *Green Chem.* **2002**, 4 (5), 517.
- 31 Earle, M. J.; Katdare, S. P.; Seddon, K. R., *Org. Lett.* **2004**, 6 (5), 707.

- 32 Yong, F.-F.; Poh, C.-Y.; Chua, G.-L.; Teo, Y.-C., *Chem. Lett.* **2010**, 39 (5), 490.
- 33 Zhang, T.; Cheng, L.; Hameed, S.; Liu, L.; Wang, D.; Chen, Y.-J., *Chem. Commun.* **2011**, 47 (23), 6644.
- 34 Fan, X.; Hu, X.; Zhang, X.; Wang, J., *Aust. J. Chem.* **2004**, 57 (11), 1067.
- 35 Wasserscheid, P.; Keim, W., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39 (21), 3772.
- 36 Snelders, D. J.; Dyson, P. J., *Org. Lett.* **2011**, 13 (15), 4048.
- 37 Currie, M.; Estager, J.; Licence, P.; Men, S.; Nockemann, P.; Seddon, K. R.; Swadzba-Kwasny, M.; Terrade, C., *Inorg. Chem.* **2013**, 52 (4), 1710.
- 38 Wasserscheid, P.; Waffenschmidt, H., *J. Mol. Catal. A - Chem* **2000**, 164 (1-2), 61.
- 39 Gagner, J. E.; Qian, X.; Lopez, M. M.; Dordick, J. S.; Siegel, R. W., *Biomaterials* **2012**, 33 (33), 8503.
- 40 Magnuson, D. K.; Bodley, J. W.; Evans, F. D., *J. Sol. Chem.* **1984**, 13 (8), 583.
- 41 Baker, S. N.; McCleskey, T. M.; Pandey, S.; Baker, G. A., *Chem. Commun.* **2004**, (8), 940.
- 42 Anderson, E. M.; Larsson, K. M.; Kirk, O., **1998**, 16 (3), 181.
- 43 Madeira Lau, R.; Van Rantwijk, F.; Seddon, K. R.; Sheldon, R. A., *Org. Lett.* **2000**, 2 (26), 4189.
- 44 Weingartner, H.; Cabrele, C.; Herrmann, C., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14 (2), 415.
- 45 Fujita, K.; MacFarlane, D. R.; Forsyth, M.; Yoshizawa-Fujita, M.; Murata, K.; Nakamura, N.; Ohno, H., *Biomacromolecules* **2007**, 8 (7), 2080.
- 46 Byrne, N.; Wang, L. M.; Belieres, J. P.; Angell, C. A., *Chem. Commun.* **2007**, (26), 2714.
- 47 Hofmeister, F., *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* **1888**, 64, 247.
- 48 Kumar, A.; Venkatesu, P., *Int. J. Biol. Macromol.* **2013**.
- 49 Figueiredo, A. M.; Sardinha, J.; Moore, G. R.; Cabrita, E. J., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, 15 (45), 19632.
- 50 Wasserscheid, P.; Bösmann, A.; Bolm, C., *Chem. Commun.* **2002**, (3), 200.
- 51 Ding, J.; Welton, T.; Armstrong, D. W., *Anal. Chem.* **2004**, 76 (22), 6819.
- 52 Howarth, J.; Hanlon, K.; Fayne, D.; McCormac, P., *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38 (17), 3097.
- 53 Nobuoka, K.; Kitaoka, S.; Kunimitsu, K.; Iio, M.; Harran, T.; Wakisaka, A.; Ishikawa, Y., *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (24), 10106.
- 54 Janus, E.; Goc-Maciejewska, I.; Łożyński, M.; Pernak, J., *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47 (24), 4079.
- 55 Pegot, B.; Nguyen, V. B.; Gori, D.; Vo-Thanh, G., *Beilstein J. Org. Chem.* **2006**, 2, 18.
- 56 Pégot, B.; Vo-Thanh, G.; Gori, D.; Loupy, A., *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45 (34), 6425.
- 57 Diez-Gonzalez, S.; Marion, N.; Nolan, S. P., *Chem. Rev.* **2009**, 109 (8), 3612.
- 58 Schönherr, H.-J.; Wanzlick, H.-W., *Liebigs Ann.* **1970**, 731 (1), 176.
- 59 Arduengo, A. J.; Harlow, R. L.; Kline, M., *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113 (1), 361.
- 60 Herrmann, W. A.; Elison, M.; Fischer, J.; Köcher, C.; Artus, G. R. J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 34 (21), 2371.
- 61 Cheng, Y.; Sun, J.-F.; Yang, H.-L.; Xu, H.-J.; Li, Y.-Z.; Chen, X.-T.; Xue, Z.-L., *Organometallics* **2009**, 28 (3), 819.
- 62 Matsubara, K.; Ueno, K.; Shibata, Y., *Organometallics* **2006**, 25 (14), 3422.

- 63 Yu, H.; Wan, L.; Cai, C., *J. Fluor. Chem.* **2012**, *144*, 143.
- 64 Herrmann, W. A.; Goossen, L. J.; Köcher, C.; Artus, G. R. J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35* (2324), 2805.
- 65 Seo, H.; Hirsch-Weil, D.; Abboud, K. A.; Hong, S., *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (5), 1983.
- 66 Carmichael, A. J.; Earle, M. J.; Holbrey, J. D.; McCormac, P. B.; Seddon, K. R., *Org. Lett.* **1999**, *1* (7), 997.
- 67 Böhm, V. P. W.; Herrmann, W. A., *Chem. - Eur. J.* **2000**, *6* (6), 1017.
- 68 Xu, L.; Chen, W.; Xiao, J., *Organometallics* **2000**, *19* (6), 1123.
- 69 Visser, A. E.; Swatloski, R. P.; Reichert, W. M.; Davis Jr, J. H.; Rogers, R. D.; Mayton, R.; Sheff, S.; Wierzbicki, A., *Chem. Commun.* **2001**, (1), 135.
- 70 Fulvio, P. F.; Hillesheim, P. C.; Oyola, Y.; Mahurin, S. M.; Veith, G. M.; Dai, S., *Chem. Commun.* **2013**, *49* (66), 7289.
- 71 Bidart, C.; Jiménez, R.; Carlesi, C.; Flores, M.; Berg, Á., *Chem. Eng. Comm.* **2011**, *175*, 388.
- 72 Bystron, T.; Bouzek, K., *J. Electrochem. Soc.* **2013**, *160* (8), G117.
- 73 Brauer, D. J.; Kottsieper, K. W.; Liek, C.; Stelzer, O.; Waffenschmidt, H.; Wasserscheid, P., *J. Organomet. Chem.* **2001**, *630* (2), 177.
- 74 Geldbach, T. J.; Dyson, P. J., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (26), 8114.
- 75 Yao, Q.; Zhang, Y., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42* (29), 3395.
- 76 Sellin, M. F.; Webb, P. B.; Cole-Hamilton, D. J., *Chem. Commun.* **2001**, (8), 781.
- 77 Valkenberg, M. H.; deCastro, C.; Hölderich, W. F., *Top. Catal.* **2000**, *14*, 139.
- 78 Mehnert, C. P.; Cook, R. A.; Dispenziere, N. C.; Afeworki, M., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (44), 12932.
- 79 Hagiwara, H.; Sugawara, Y.; Isobe, K.; Hoshi, T.; Suzuki, T., *Org. Lett.* **2004**, *6* (14), 2325.
- 80 Riisager, A.; Fehrmanna, R.; Haumannb, M.; Wasserscheidb, P., *Top. Catal.* **2006**, *40* (1-4), 91.
- 81 Gausepohl, R.; Buskens, P.; Kleinen, J.; Bruckmann, A.; Lehmann, C. W.; Klankermayer, J.; Leitner, W., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (22), 3689.
- 82 Shi, M.; Chen, L.-H., *Chem. Commun.* **2003**, (11), 1310.
- 83 List, B., *Chem. Commun.* **2006**, (8), 819.
- 84 Jen, W. S.; Wiener, J. J. M.; MacMillan, D. W. C., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (40), 9874.
- 85 Hajos, Z. G.; Parrish, D. R., *J. Org. Chem.* **1974**, *39* (12), 1615.
- 86 List, B.; Lerner, R. A.; Barbas, C. F., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (10), 2395.
- 87 List, B.; Hoang, L.; Martin, H. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101* (16), 5839.
- 88 Bahmanyar, S.; Houk, K. N.; Martin, H. J.; List, B., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (9), 2475.
- 89 Luo, S.; Mi, X.; Zhang, L.; Liu, S.; Xu, H.; Cheng, J. P., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (19), 3093.
- 90 Bica, K.; Gaertner, P., *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008* (19), 3235.
- 91 Brozinski, H. L.; Delaney, J. P.; Henderson, L. C., *Aust. J. Chem.* **2013**, *66* (8), 844.
- 92 Lombardo, M.; Easwar, S.; Pasi, F.; Trombini, C., *Adv. Synth. & Catal.* **2009**, *351* (1-2), 276.
- 93 Maltsev, O. V.; Kucherenko, A. S.; Beletskaya, I. P.; Tartakovsky, V. A.; Zlotin, S. G., *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010* (15), 2927.

- 94 Zhang, L.; Luo, S.; Mi, X.; Liu, S.; Qiao, Y.; Xu, H.; Cheng, J. P., *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6* (3), 567.
- 95 Hu, S.; Jiang, T.; Zhang, Z.; Zhu, A.; Han, B.; Song, J.; Xie, Y.; Li, W., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48* (32), 5613.
- 96 Fukumoto, K.; Yoshizawa, M.; Ohno, H., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (8), 2398.
- 97 Qian, Y.; Xiao, S.; Liu, L.; Wang, Y., *Tetrahedron - Asymmetry* **2008**, *19* (13), 1515.
- 98 Qian, Y.; Zheng, X.; Wang, Y., *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010* (19), 3672.
- 99 Ortega-Caballero, F.; Rousseau, C.; Christensen, B.; Petersen, T. E.; Bols, M., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (10), 3238.
- 100 Bjerre, J.; Rousseau, C.; Marinescu, L.; Bols, M., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *81* (1), 1.
- 101 Polgar, L.; Bender, M. L., *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88* (13), 3153.
- 102 Neet, K. E.; Koshland, D. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1966**, *56* (5), 1606.
- 103 Kaiser, E.; Lawrence, D., *Science* **1984**, *226* (4674), 505.
- 104 Jia, R.; Hu, Y.; Liu, L.; Jiang, L.; Zou, B.; Huang, H., *ACS Catalysis* **2013**, *3* (9), 1976.
- 105 Carey, J. R.; Ma, S. K.; Pfister, T. D.; Garner, D. K.; Kim, H. K.; Abramite, J. A.; Wang, Z.; Guo, Z.; Lu, Y., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (35), 10812.
- 106 Srinivasan, K.; Michaud, P.; Kochi, J. K., *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108* (9), 2309.
- 107 Reetz, M. T.; Rentzsch, M.; Pletsch, A.; Maywald, M., *CHIMIA* **2002**, *56* (12), 721.
- 108 Matsuo, T.; Imai, C.; Yoshida, T.; Saito, T.; Hayashi, T.; Hirota, S., *Chem. Commun.* **2012**, *48* (11), 1662.
- 109 Dong, Z.; Luo, Q.; Liu, J., *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (23), 7890.
- 110 Livnah, O.; Bayer, E. A.; Wilchek, M.; Sussman, J. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90* (11), 5076.
- 111 Peacock, A. F., *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2013**, *17* (6), 934.
- 112 Yamamura, K.; Kaiser, E. T., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1976**, (20), 830.
- 113 Okrasa, K.; Kazlauskas, R. J., *Chem. - Eur. J.* **2006**, *12* (6), 1587.
- 114 Abe, S.; Ueno, T.; Watanabe, Y., **2009**, *25*, 25.
- 115 Reetz, M. T.; Jiao, N., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (15), 2416.
- 116 Laitinen, O. H.; Nordlund, H. R.; Hytonen, V. P.; Kulomaa, M. S., *Trends Biotechnol.* **2007**, *25* (6), 269.
- 117 Rosano, C.; Arosio, P.; Bolognesi, M., *Biomol. Eng.* **1999**, *16* (1-4), 5.
- 118 Laitinen, O. H.; Airenne, K. J.; Marttila, A. T.; Kulik, T.; Porkka, E.; Bayer, E. A.; Wilchek, M.; Kulomaa, M. S., *FEBS Letters* **1999**, *461* (1-2), 52.
- 119 Hendrickson, W. A.; Pahler, A.; Smith, J. L.; Satow, Y.; Merritt, E. A.; Phizackerley, R. P., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86* (7), 2190.
- 120 Wilson, M. E.; Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100* (1), 306.
- 121 Collot, J.; Gradinaru, J.; Humbert, N.; Skander, M.; Zocchi, A.; Ward, T. R., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (30), 9030.
- 122 Rusbandi, U. E.; Skander, M.; Ivanova, A.; Malan, C.; Ward, T. R., *C.R. Chim.* **2007**, *10* (8), 678.
- 123 Creus, M.; Pordea, A.; Rossel, T.; Sardo, A.; Letondor, C.; Ivanova, A.; Letrong, I.; Stenkamp, R. E.; Ward, T. R., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47* (8), 1400.
- 124 Hyster, T. K.; Knorr, L.; Ward, T. R.; Rovis, T., *Science* **2012**, *338* (6106), 500.
- 125 Lapointe, D.; Fagnou, K., *Chem. Lett.* **2010**, *39* (11), 1118.



126 Zimbron, J. M.; Heinisch, T.; Schmid, M.; Hamels, D.; Nogueira, E. S.; Schirmer, T.; Ward, T. R., *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (14), 5384.

**Chapitre 2 : Sels d'imidazolium possédant un anion catalytique: études et applications pour une réaction d'aldol**

## 2.1 Préface

Au commencement de ces travaux, la preuve de concept de l'utilisation de tels composés comme catalyseurs restait encore à établir, car les seuls sels d'imidazolium utilisés en catalyse possédaient l'entité catalytique covalamment lié au cation imidazolium. Bien qu'un exemple de liquide ionique avec un anion comme entité catalytique fût rapporté dans la littérature, ses performances en catalyse asymétrique restaient encore très modestes. Deux sels d'imidazolium avec un dérivé hydroxyproline comme contre-anion ont été préparés et ont servi de modèles dans l'étude de ce type de catalyseurs. Ce chapitre s'attardera sur la préparation de ces sels d'imidazolium et sur l'étude de leur mode de fonctionnement pour une réaction d'aldol asymétrique en milieu liquide ionique. L'influence de la chiralité naturelle apportée par l'anion est étudiée et l'assistance supramoléculaire du cation dans l'induction de chiralité est discutée.

Ma contribution à cet article fut de réaliser la totalité du travail présenté, ainsi que de rédiger la première version du manuscrit.

La modélisation moléculaire utilisée pour appuyer les propositions mécanistiques, ainsi que la version finale de la rédaction de l'article, ont été réalisées par Andreea Schmitzer.

Les informations supplémentaires de cet article sont situées aux pages 168-176 de ce document.

## 2.2 Article 1: Asymmetric aldol reaction catalyzed by the anion of an ionic liquid

Vincent Gauchot and Andreea R. Schmitzer

Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128 Succursale Centre-ville, Montréal, Québec, H3C 3J7, Canada

*Journal of Organic Chemistry*, **2012**, 77, 4917-4923

Reprinted with minor corrections, with permission from *Journal of Organic Chemistry*, Vincent Gauchot and Andreea R. Schmitzer, « Asymmetric aldol reaction catalyzed by the anion of an ionic liquid », **2012**, 77, 4917-4923. Copyright (2012) American Chemical Society

### 2.2.1 Abstract

Herein we report the synthesis of a chiral imidazolium salt derived from trans-L-hydroxyproline and its applications as a catalyst for the asymmetric aldol reaction. By performing the aldol reaction in [Bmim]NTf<sub>2</sub> as a solvent, we report excellent isolated yields of the aldol product (up to 99%), as well as modest to excellent selectivities (*dr* superior to 99:1. *ee* up to 89%). Mechanistic insights and the origins of the selectivity of the aldol reaction are discussed on the basis of the results obtained with two catalytic imidazolium salts having different H-bonding potential.

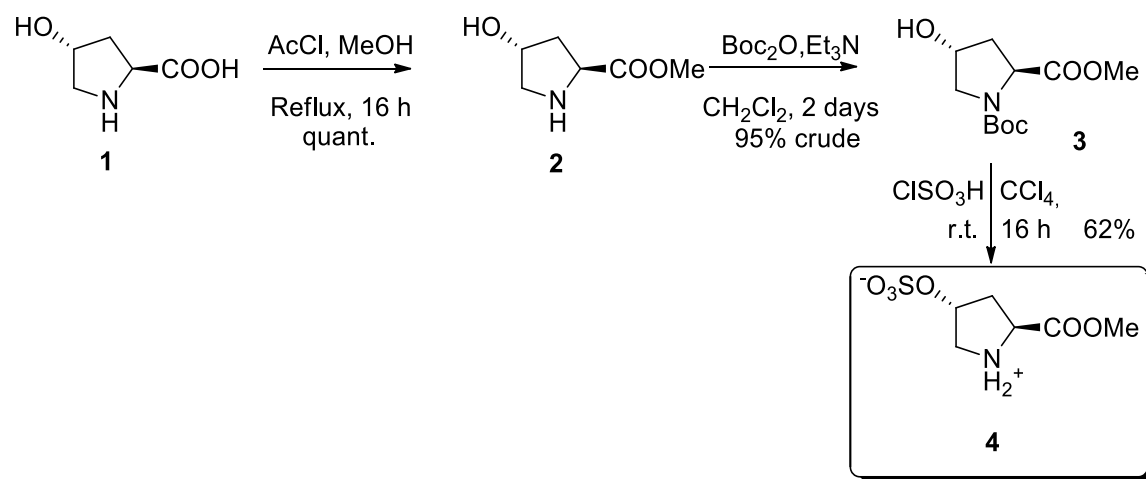
### 2.2.2 Introduction

Organocatalysis, through the use of readily available small chiral molecules as catalysts, has become a field of major interest in the stereocontrolled preparation of chiral adducts.<sup>1-4</sup> Over the last 10 years, the wide application range of organocatalysis has been described through various examples, such as organocatalyzed cycloaddition reactions, desymmetrization reactions, and total synthesis.<sup>5-9</sup> The aldol reaction is one of the most important carbon-carbon bond-forming reactions for the preparation of small optically active molecules. Since Hajos and Parrish described the first organocatalyzed aldol reaction using (S)-proline as the catalyst, various examples involving proline and its derivatives demonstrated their efficiency as catalysts for stereoselective organic reactions.<sup>10-11</sup> However, there remain issues regarding the use of environmentally unfriendly solvents such as DMF or DMSO and the difficulties of recycling large quantities of catalysts. Over the past decade, ionic liquids (ILs) have attracted growing attention as they are becoming greener alternatives to classical organic solvents.<sup>12-14</sup> Several examples have described efficient aldol reactions carried out in IL as solvents.<sup>15-18</sup> More recently, the design and the use of these ionic liquids in combination with chiral catalysts has provided excellent yields and diastereoselectivities. Many examples of functionalized imidazolium cations as catalytic species have been reported in the literature,<sup>19</sup> but so far only two examples of asymmetric aldol reactions catalyzed by a chiral anion have been reported. While the first example reported an enantiomeric excess below 10%,<sup>20</sup> Wang et al. recently described an imidazolium salt catalyst with L-proline as the anion.<sup>21</sup> Using their [Emim][Pro] catalyst, they reported modest

to excellent yields and very good selectivities in the aldol reaction. We present here the supramolecular assistance of the anion of an imidazolium salt in an asymmetric aldol reaction performed in an ionic liquid medium. Using two different catalysts derived from *trans*-L-hydroxyproline, we discuss mechanistic insights of the reaction, the importance of the functionalization of the carboxylic group of the proline and its role on the stereoselective outcome of the reaction. Carrying out the aldol reaction in [Bmim]NTf<sub>2</sub> using 30 mol % of catalyst led to very good results in terms of yields (up to 99%) and selectivities (*dr* > 99:1, *ee* up to 89%). To the best of our knowledge, this is the second example of an asymmetric aldol reaction catalyzed by an anion-modified catalytic ionic liquid providing satisfying conversion and selectivity. The use of ionic liquids both as solvent and catalyst make this methodology attractive in terms of atom economy and green chemistry.

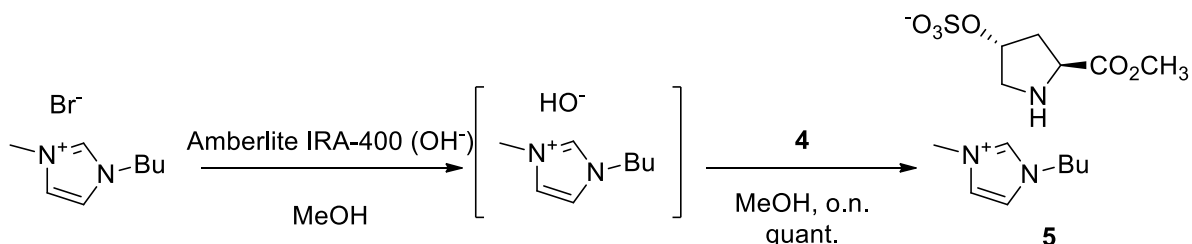
### 2.2.3 Results and discussion

Starting with the readily available *trans*-L-hydroxyproline, the carboxylic acid moiety was first esterified under classic conditions (Scheme 2.1). Because of solubility issues, protection of the *trans*-L-hydroxyproline methyl ester **2** with a Boc group was necessary in order to proceed to the sulfonation reaction in CCl<sub>4</sub>. Sulfonation of the hydroxyl group allowed the simultaneous deprotection of the Boc group, leading to the ester zwitterion **4**. Crystals of **4** suitable for X-ray crystal structure determination were obtained by diffusion of ether to a methanol solution (see the Supporting Information).



**Scheme 2.1** : Synthesis of the anion

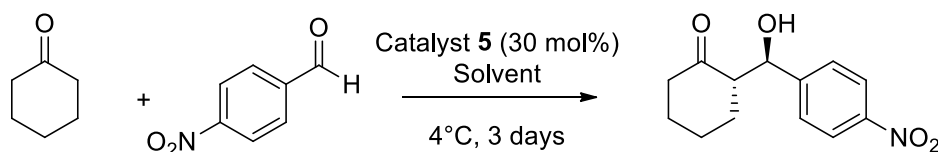
Since typical anion metathesis was unsuccessful, the formation of [Bmim]OH as a nonisolable intermediate was required for the anion exchange. The preparation of [Bmim]-OH was performed using an Amberlite IRA-400 hydroxide form resin, and the anion metathesis was then performed (Scheme 2.2).



**Scheme 2.2** : Preparation of the catalyst

A typical aldol reaction between *p*-nitrobenzaldehyde and cyclohexanone was carried out in several solvents using 30 mol % catalyst loading, according to the previously described conditions for this type of reaction.<sup>21</sup> Whether the reaction was carried out in typical organic solvents or IL, a very long reaction time was required (Table 2.1). TLC analysis revealed that some reactions were still incomplete after 5 days.

ILs led to better enantioselectivities than common organic solvents. As it was previously demonstrated that the formation of the enamine intermediate should be enhanced by a catalytic source of acid, a solvent screening study was performed using acetic acid (30 mol %) as an additive. As shown in Table 2.1, the overall trend for the addition of acid was to reduce the reaction time, though selectivity was unchanged. Increasing solvent polarity had little effect on diastereoselectivity, but generally offered a slight improvement of *ee*. Performing the reaction in neat conditions predictably afforded excellent yields, but poor selectivity. Within this series, the ionic liquids ([Bmim]BF<sub>4</sub>, [Bmim]PF<sub>6</sub>, and [Bmim]NTf<sub>2</sub>), offered the best combination of good yields and selectivities.

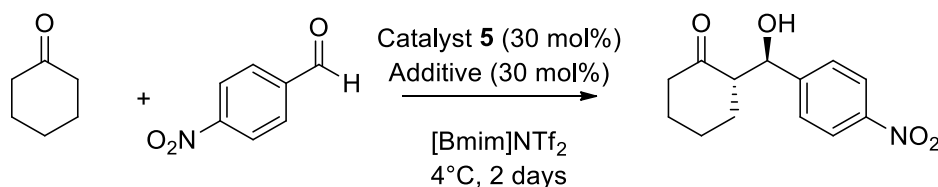
**Table 2.1** : Solvent screening

Entry	Solvent	Yield (%)	<i>dr</i> (anti:syn) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (anti) <sup>b</sup>
1	[Bmim]BF <sub>4</sub>	37 (82) <sup>c</sup>	66:34 (71:29) <sup>c</sup>	46% (55%) <sup>c</sup>
2	[Bmim]PF <sub>6</sub>	51 (82) <sup>c</sup>	76:24 (73:27) <sup>c</sup>	60% (52%) <sup>c</sup>
3	[Bmim]NTf <sub>2</sub>	53 (89) <sup>c</sup>	76:24 (75:25) <sup>c</sup>	57% (55%) <sup>c</sup>
4	MeOH	53 (73) <sup>c</sup>	62:38 (68:32) <sup>c</sup>	22% (30%) <sup>c</sup>
5	DCM	41 (66) <sup>c</sup>	75:25 (76:24) <sup>c</sup>	40% (30%) <sup>c</sup>
6	DMSO	22 (73) <sup>c</sup>	72:28 (64:36) <sup>c</sup>	34% (40%) <sup>c</sup>
7	DMF	20 (16) <sup>c</sup>	71:29 (73:27) <sup>c</sup>	79% (75%) <sup>c</sup>
8	neat	82 (98) <sup>c</sup>	59:41 (58:42) <sup>c</sup>	44% (60%) <sup>c</sup>

Conditions: A solution of cyclohexanone (0.3 mmol) and catalyst (30 mol%) in solvent (0.3 ml) was stirred for 30 min at 4 °C. *p*-nitrobenzaldehyde (0.1 mmol) was added and the mixture was stirred for 72 h at 4 °C.<sup>a</sup>: Determined by <sup>1</sup>H NMR. <sup>b</sup>: Determined by chiral HPLC. <sup>c</sup>: Results in parentheses were obtained when using acetic acid as an additive; reaction time was 48 h.

Best results were achieved in [Bmim]PF<sub>6</sub>, and [Bmim]NTf<sub>2</sub>, but since PF<sub>6</sub>-derived ILs are known to release HF,<sup>22</sup> we further explored the [Bmim]NTf<sub>2</sub> system by improving the reaction conditions and recyclability. With the goal of optimizing the reaction conditions, various acidic additives were tested for the aldol reaction (Table 2.2). With the exception of acetic acid, the decrease of selectivity in spite of a shorter reaction time suggests a kinetic control of the reaction, where the formation of the racemate is favored, instead of one particular enantiomer. Another indication of kinetic control was the lower selectivity observed when performing the reaction at room temperature.

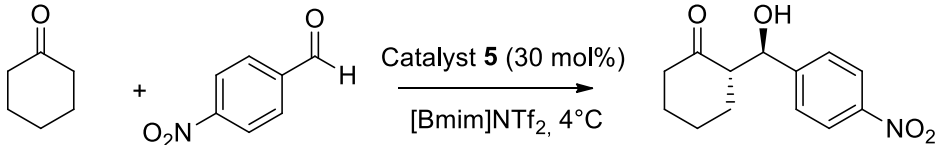


**Table 2.2** : Influence of acidic additives

Entry	Additive	Yield (%)	<i>dr</i> (anti:syn) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (anti) <sup>b</sup>
1	None	43	76:24	57%
2	<i>p</i> -TSA	6	57:43	rac.
3	TFA	11	75:25	rac.
4	3,5 - DNBA	63	74:26	47%
5	Benzoic acid	64	71:29	41%
6	Acetic acid	72	75:25	52%

<sup>a</sup>:Determined by <sup>1</sup>H NMR. <sup>b</sup>:Determined by chiral HPLC.

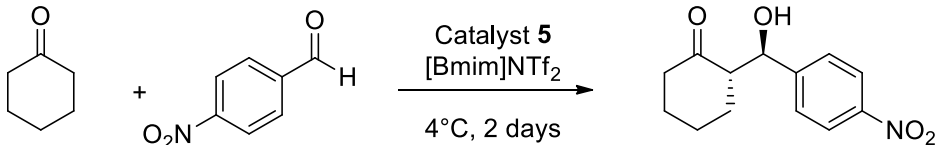
Strong inhibition of the aldol reaction was observed in the presence of TFA and *p*-TSA: these acids are strong enough to protonate the counteranion of the catalyst (pK<sub>a</sub> of 0.3 and -2.8, respectively), leading to anion metathesis and destruction of the catalyst, explaining the poor yields and selectivities. A variation of the medium concentration was also tested using [Bmim]NTf<sub>2</sub> as solvent with catalyst **5**. As a general trend, it was observed that increasing the concentration of the reaction medium reduced the reaction time and led to better selectivities (Table 2.3). In an attempt to further decrease the reaction time, the reaction was carried out at the highest concentration tested, using acetic acid as additive, and we were surprised to observe that enantioselectivity plummeted.

**Table 2.3** : Concentration studies


Entry	[Aldehyde] (mol.L <sup>-1</sup> )	<i>dr</i> (anti:syn) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (anti) <sup>b</sup>
1	0.33	76:24	57%
2	0.40	75:25	65%
3	0.50	76:24	71%
4	0.66	81:19	69%
5	1	89:11	73%
6 <sup>c</sup>	1	71:29	29%
7 <sup>d</sup>	1	86:14	86%

All reactions were arbitrary stopped after 16h.<sup>a</sup>: Determined by <sup>1</sup>H NMR. <sup>b</sup>: Determined by chiral HPLC. <sup>c</sup>: Reaction was carried out using acetic acid as an additive (30 mol%). <sup>d</sup>: 10 eq. of cyclohexanone; reaction time was 2 days .

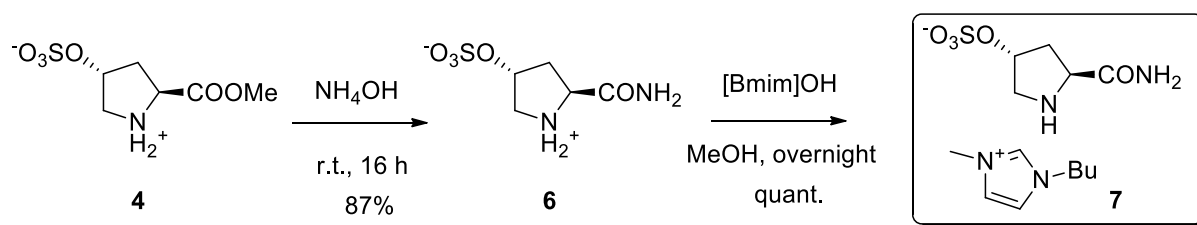
Based on reaction results in neat conditions, we observed that adding 10 eq of cyclohexanone instead of 3 allowed the reaction to be completed in 2 days, with higher *dr* (86:14) and *ee* (86%) (Table 2.3, entry 7). Using these optimized conditions, a lower catalyst loading only resulted in a longer reaction time and lower selectivities (Table 2.4).

**Table 2.4** : Influence of catalyst loading


Entry	Catalyst loading	Yield (%)	<i>dr</i> (anti:syn) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (anti) <sup>b</sup>
1	30%	83	86:14	86%
2	20%	35	83:17	81%
3	10%	17	73:27	75%

<sup>a</sup>: Determined by <sup>1</sup>H NMR. <sup>b</sup>: Determined by chiral HPLC.

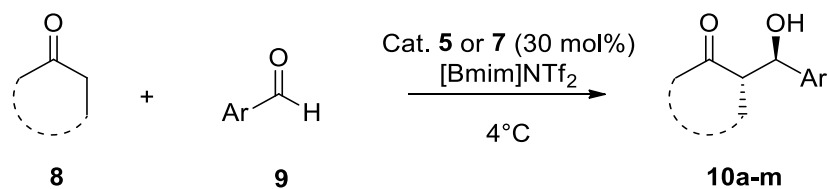
To broaden the scope of our catalyst **5**, we performed the asymmetric aldol reaction for different cyclic ketones under the optimized conditions, using *o*-, *m*-, or *p*-nitrobenzaldehydes. As shown in Table 2.5 (entries 1–6), apart from cycloheptanone, the reaction proceeded with good yields and generally good *ee*. However, when performing the aldol reaction with other aldehydes, no aldol product was observed, probably due to both the lower reactivity of these aldehydes and the steric hindrance induced by the methyl group of the catalyst. Based on these observations, we designed another catalyst anion bearing a hydrogen bond donor functional group. Zwitterion **6** was obtained by dissolving **4** in concentrated ammonium hydroxide, and catalyst **7** was prepared using the same conditions used for catalyst **5** (Scheme 2.3).



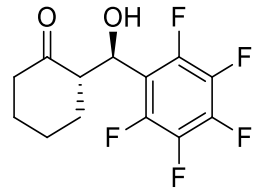
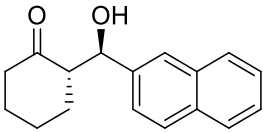
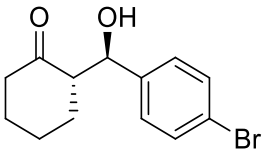
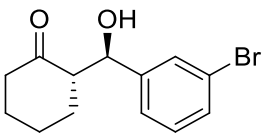
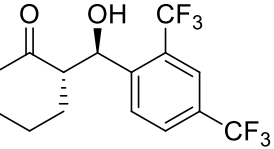
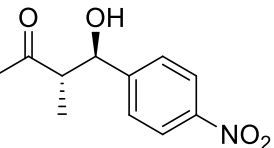
**Scheme 2.3** : Preparation of catalyst **7**

We expected this new catalyst **7** to be more efficient toward less reactive aldehydes through activation by hydrogen bonding with these aldehydes and to have the properties required to participate and control the stereoselectivity of the reaction. Carrying out the aldol reaction with less activated aldehydes and catalyst **7** gave access to aldol products that catalyst **5** could not produce, with good to excellent yields, as well as excellent selectivities (Table 2.5, entries 7–13). Less reactive aldehydes, such as 2-naphthaldehyde or 2-thiophenecarboxaldehyde gave only low to moderate yields, even after longer reaction times, but still led to the aldol product with excellent diastereo- and enantioselectivities. These results highlighted the assistance of the amide group in the reaction, by activating the aldehydes through hydrogen bonding. Nonetheless, when catalyst **7** was used in our model reaction of cyclohexanone with *p*-nitrobenzaldehyde, a qualitatively faster reaction was observed, but with a lower selectivity. Only *anti* enantiomeric excess were reported, as the *syn* diastereomers were almost always obtained as a racemate.

**Table 2.5** : Substrate scope



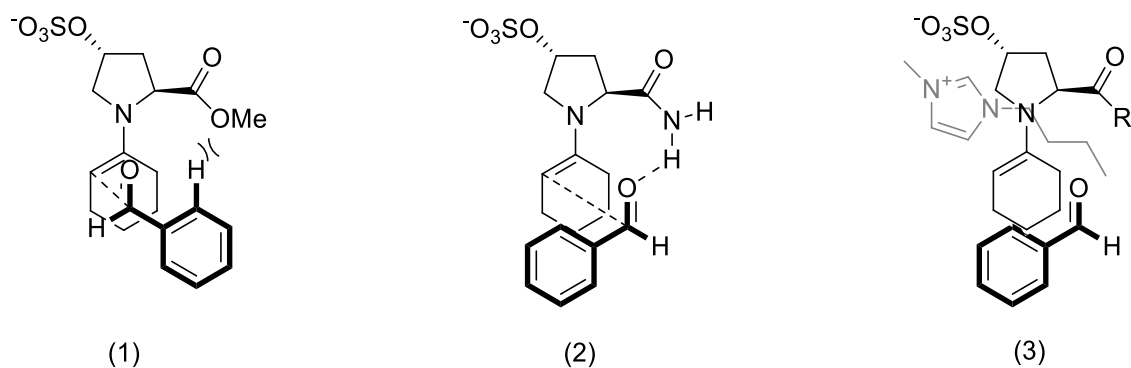
Entry	Product	Catalyst	Time	Yield	<i>dr</i> (anti:syn) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (anti) <sup>b</sup>
<b>10a</b>		<b>5</b>	2 d	83%	84:16	4%/86%
		<b>7</b>	16h	82%	75:25	(syn/anti) 76%
<b>10b</b>		<b>5</b>	2 d.	82%	97:3	69%
<b>10c</b>		<b>5</b>	2 d.	77%	85:15	67%
<b>10d</b>		<b>5</b>	2 d.	99%	83:17	56%
<b>10e</b>		<b>5</b>	5 d.	33%	66:34	16%
<b>10f</b>		<b>5</b>	2 d.	71%	37:63	16%
<b>10g</b>		<b>7</b>	2 d.	93%	>99:1	89%
<b>10h</b>		<b>7</b>	5 d.	11%	95:5	85%

<b>10i</b>	9		7	2 d.	92%	>99:1	88%
<b>10j</b>	10		7	4 d.	38%	84:16	77%
<b>10k</b>	11		7	2 d.	49%	98:2	83%
<b>10l</b>	12		7	2 d.	70%	78:22	75%
<b>10m</b>	13		7	2 d.	80%	>99:1	88%
<b>10n</b>	14		7	2 d.	58%	62:38	76%

<sup>a</sup>: Determined by <sup>1</sup>H NMR. <sup>b</sup>: Determined by chiral HPLC.

Catalyst **5** gave a complex mixture of regioisomers when using linear ketones, but using catalyst **7** with 2-butanone as the substrate, only one regioisomer was obtained in good yields and selectivities (Table 2.5, entry 14).

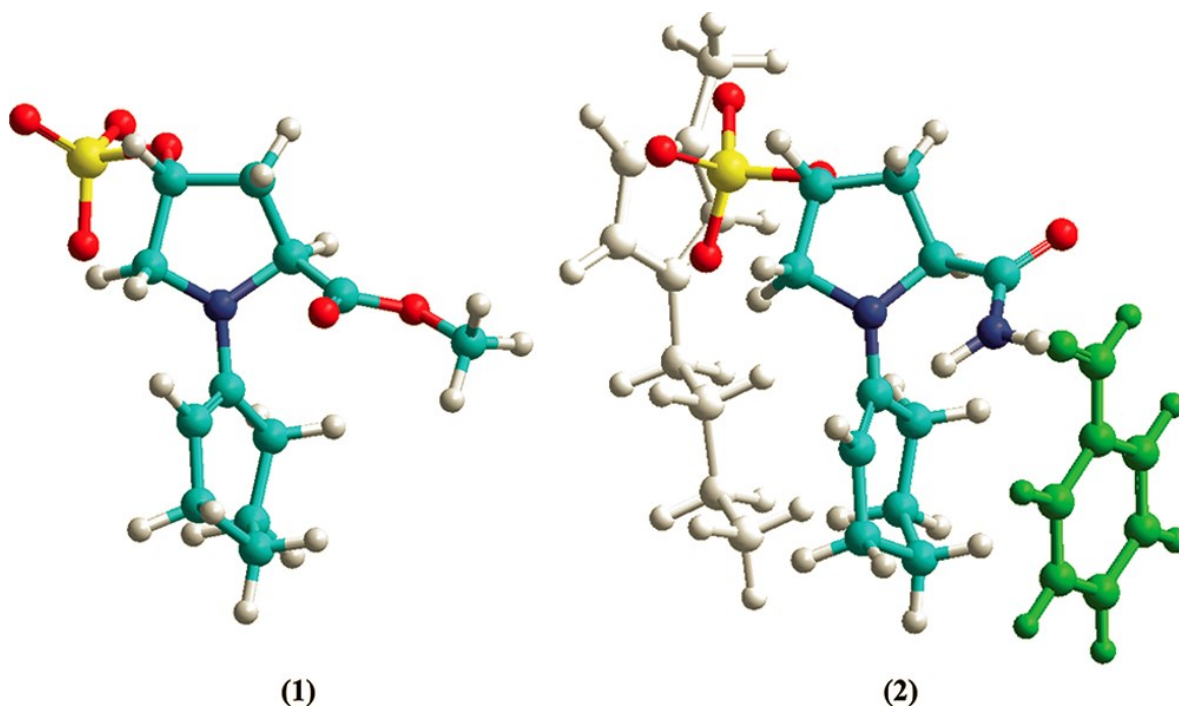
In terms of mechanism, our first hypothesis was that the steric hindrance of the methyl group of the ester moiety on the anion was the main source of the selectivity of the reaction when using catalyst **5** (Figure 2.1 (1)).



**Figure 2.1** : Proposed transition states

The methyl group should be bulky enough to hinder the approach of aldehyde to the enamine intermediate, and favor the approach by the opposite face. However, catalyst **7**, able to form hydrogen bonds with the aldehyde (Figure 2.1 (2)) and direct its approach, led to the same major enantiomer and a 3-fold shorter reaction time (16 h instead of 48 h). The amide group, by hydrogen bonding, may be responsible for directing the approach of the aldehyde toward the enamine while activating the aldehyde. It is reasonable to propose a similar transition state using catalyst **5**, but steric hindrance of the ester moiety may be the source of the lower reactivity. None of our experiments confirmed the implication of the imidazolium cation in the transition state, as proposed previously.<sup>21</sup> As the major obtained stereoisomers are the same using either the ester or the amide catalyst, discrimination between the two faces of the reaction intermediate when approaching the aldehyde could be attributed to the position of the imidazolium cation close to the sulfonate group (Figure 2.1 (3)). The imidazolium cation, being localized near the negative charge on the proline derivative, may block the approach of the aldehyde on this side and allow the formation of the anti diastereomer.

Molecular modeling was performed to confirm the proposed transition states and, as shown in Figure 2.2 (2), the resulting models support the experimental results. The imidazolium cation is close to the negative charge of the sulfate group (1), which sterically hinders the approach of the aldehyde (2) on this side.



**Figure 2.2** : Theoretical calculation of the enamine intermediate obtained with MOPAC, PM6 method. Carbon atoms are represented in blue, oxygen in red, and sulfur in yellow. The aldehyde is represented in green and the imidazolium cation in gray.

The possibility to recycle the catalyst and the ionic liquid was also proven for cyclohexanone and *p*-nitrobenzaldehyde reaction (Table 2.6).

**Table 2.6** : Recycling studies

Catalytic run	Reaction Time (days)	Conversion <sup>a</sup> :
1	2	97%
2	2.5	91%
3	3	87%
4	3	99%
5	4	85%

<sup>a</sup>: Determined by chiral HPLC.

Up to five catalytic runs were achieved, with only a small decrease in the catalytic efficiency of our system.

## 2.2.4 Conclusion

In conclusion, we report the supramolecular assistance of an imidazolium-based chiral catalyst in asymmetric organic synthesis. The mechanistic insights of the asymmetric aldol reaction allow us to propose that the same proline-based catalyst can be used in other reactions involving enamine intermediates, such as the Michael addition. Up to five catalytic cycles were performed using the same conditions, illustrating the recyclability of this setup. The ease of switching the anion encouraged us to develop and design other catalytic anions, which is currently underway in our group.

## 2.2.5 Experimental section

All organic compounds were obtained commercially and used without further purification.  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectra were recorded on 400, 300, 100, and 75 MHz spectrometers, respectively, in the indicated solvent. Chemical shifts are reported in ppm with internal reference to the deuterated solvent, and J values are given in Hertz. All HPLC analysis were done using Chiralpak AD or OD columns and absolute configurations of the aldols products were based on previously reported literature.<sup>23-25</sup> Ionic liquids used as solvents were prepared as already described.<sup>26</sup>

### 2.2.5.1 Molecular modeling.

In order to assess the energy content for various molecules designed, semiempirical quantum calculations were undertaken using the PM6 method in gas phase or in aqueous solution (MOPAC2009TM; Stewart Computational Chemistry). All structures were optimized to a gradient inferior to 0.1 using the eigenvector following method.

### 2.2.5.2 Preparation of the catalysts

**(2S,4R)-Methyl-4-hydroxypyrrolidine-2-carboxylate hydrochloride 2.** *trans*-4-hydroxy-L-proline (5.0 g) was suspended in methanol (40 ml) and cooled down to 0 °C. Acetyl chloride (4.08 ml, 1.5 eq.) was slowly added and the reaction was stirred at reflux for 16 h. The reaction mixture was then cooled down to room temperature. Ether was added and the reaction medium filtered to afford compound **2** (6.92 g, quant.) as white crystals.  $^1\text{H}$  NMR



(D<sub>2</sub>O, 400 MHz):  $\delta$  = 4.53 - 4.66 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.28 - 3.52 (m, 2H), 2.41 (dd,  $J$  = 14.1, 7.7 Hz, 1H), 2.12 - 2.29 (m, 1H); <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 100 MHz):  $\delta$  = 171, 70.2, 58.9, 54.6, 54.2, 37.4. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>3</sub> 146.08117; Found 146.08111; mp: 161.8-162.2 °C.

**(2S,4R)-1-tert-butyl-2-methyl-4-hydroxypyrrolidine-1,2-dicarboxylate 3.**

Compound 2 (4 g) was suspended in methylene chloride and cooled down to 0 °C. Triethylamine (9.21 ml, 3 eq.) and di-*tert*-butyl dicarbonate (5.29 g, 1.1 eq.) were added and the mixture was stirred at room temperature for two days. The solution was first washed with an aqueous solution of 1N HCl, then washed with a saturated aqueous solution of NaHCO<sub>3</sub>, and finally washed with brine. The organic phase was dried on magnesium sulfate, filtered and concentrated under vacuum to give the crude product **3** as a pale yellow oil (5.13 g, 95% crude). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 4.49 (bs, 1H), 4.40 (t,  $J$  = 8 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.44 - 3.65 (m, 2H), 2.22 - 2.35 (m, 1H), 3.03 - 2.12 (m, 1H); HRMS (ESI) Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>5</sub>Na 268.11554; Found 268.11652.

**(3R, 5S)-5-(methoxycarbonyl)pyrrolidin-3-yl hydrogen sulfate 4.** Under inert atmosphere, crude **3** (4.835 g) was solubilized in 40 ml of carbon tetrachloride and then cooled down to 0 °C. Chlorosulfonic acid (1.57 ml, 1.2 eq.) was added dropwise to the reaction mixture under strong stirring. The reaction medium was then stirred vigorously at room temperature overnight. The solvent was removed under vacuum, the residue was triturated in methanol and then filtered to give **4** as a white powder (2.73 g, 62%). <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz):  $\delta$  = 5.12 (s, 1H), 4.65 (dd,  $J$  = 10.6, 7.9 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.68 (s, 1H), 3.55 - 3.62 (m, 1H), 2.69 - 2.79 (m, 1H), 2.37 (s, 1H), <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 100 MHz):  $\delta$  = 170.4, 77.83, 58.93, 54.68, 52.44, 35.64, HRMS (ESI) Calcd for C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>6</sub>S 226.03798; Found 226.03795.

**(3R,5S)-5-carbamoylpyrrolidin-3-yl hydrogen sulfate 6.** Compound **4** (1g, 4.44 mmol) was dissolved in concentrated ammonium hydroxide (10 ml) and the reaction medium was stirred overnight at room temperature. The solvent was evaporated under vacuum and the residue was suspended and triturated in methanol. Filtration of the mixture afforded compound **6** as a white powder (809.2 mg, 87%). <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz):  $\delta$  = 5.12 (t,  $J$  = 4.2 Hz, 1H), 4.45 (dd,  $J$  = 10.4, 7.7 Hz, 1H), 3.45 - 3.66 (m, 2H), 2.74 (dd,  $J$  = 14.5, 7.7 Hz,

1H), 2.17 - 2.29 (m, 1H), <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 100 MHz): δ = 172.8, 79.1, 59.2, 52.6, 37.1, HRMS (ESI) Calcd for C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S 211.03832; Found 211.03886.

*General procedure for the synthesis of the imidazolium catalysts.* 1-butyl-3-methylimidazolium bromide (450 mg) was dissolved in 24 ml of methanol and passed through a glass column containing 12 g of activated Amberlite IRA-400 hydroxide form resin. The column was then washed twice with 15 ml of methanol. The collected fractions were assembled in a 100 ml round-bottom flask, and zwitterion **4** or **6** was added (1.15 eq.). The mixture was allowed to stir at room temperature overnight. The solvent volume was reduced under vacuum, then cooled down to 0°C for 3h and filtered through a Celite pad to remove excess zwitterion. The filtrate was evaporated under vacuum and dried under vacuum overnight to afford catalyst **5** or **7** as a viscous pale yellow oil (quant.).

**1-butyl-3-methylimidazolium (3R, 5S)-5-(methoxycarbonyl)pyrrolidin-3-yl sulfate 5.** <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 8.60 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 4.87 - 4.97 (m, 1H), 4.09 (t, *J*=7.1 Hz, 2H), 4.02 (t, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.00 - 3.20 (m, 2H), 2.33 - 2.48 (m, 1H), 2.03 - 2.18 (m, 1H), 1.64 - 1.81 (m, 2H), 1.21 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 0.82 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 100 MHz): δ = 175, 135.4, 123, 121.7, 79.6, 57.5, 52.4, 51.5, 48.8, 35.8, 35.1, 30.8, 18.3, 12.1, HRMS (+ESI) Calcd for C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub> 139.12297; Found 139.12347; (-ESI) Calcd for C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>6</sub>S 224.02343; Found 224.02324.

**1-butyl-3-methylimidazolium (3R, 5S)-5-carbamoylpyrrolidin-3-yl sulfate 7.** <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 8.63 (s, 1H), 7.38 - 7.43 (m, 1H), 7.36 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H), 4.92 - 4.97 (m, 1H), 4.12 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.94 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.05 - 3.22 (m, 2H), 2.44 (dd, *J* = 14.5, 7.9 Hz, 1H), 2.00 (ddd, *J* = 14.3, 9.1, 5.3 Hz, 1H), 1.72 - 1.83 (m, 2H), 1.19 - 1.31 (m, 2H), 0.85 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 100 MHz): δ = 179.3, 136.40, 124.2, 123.0, 81.6, 59.4, 53.1, 50.0, 37.9, 36.4, 32.0, 19.5, 13.4, HRMS (+ESI) Calcd for C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub> 139.12297; Found 139.12323; (-ESI) Calcd for C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S 209.02377; Found 209.02279.

### 2.2.5.3 General representative procedure for the asymmetric aldol reaction

**(S)-2-((R)-hydroxy(4-nitrophenyl)methyl)cyclohexanone 10a.** Cyclohexanone (103.5 μl, 10 eq.) was introduced in a vial containing the catalyst (10.9 mg, 30% mol) in

[Bmim]NTf<sub>2</sub> (0.1 ml) and the mixture was stirred 30 min at 4 °C before p-nitrobenzaldehyde (15.12 mg, 1 eq.) was added to the reaction medium. The mixture was vigorously stirred at 4 °C until completion (monitored by TLC). The mixture was then directly purified by flash chromatography (hexanes/ethyl acetate : 9/1 then 65/35) to give the product as a white solid (20.69 mg, 83%, mp : 98-99 °C). Diastereomeric ratio (89:11) was determined by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and enantiomeric excess (syn/anti : 4%/86%) was determined by chiral HPLC (Chiralpak AD column, hexanes/isopropanol 90/10, flow rate : 1.0 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm). *t<sub>R</sub>* (syn isomer) = 18.07 (minor), 22.24 (major); *t<sub>R</sub>* (anti isomer) = 24.48 (minor), 32.45 min (major). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 8.19 - 8.27 (m, 2H), 7.47 - 7.58 (m, 2H), 4.92 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.57 - 2.66 (m, 1H), 2.48 - 2.57 (m, 1H), 2.33 - 2.44 (m, 1H), 2.09 - 2.18 (m, 1H), 1.81 - 1.92 (m, 1H), 1.66 - 1.79 (m, 1H), 1.51 - 1.66 (m, 2H), 1.36 - 1.47 (m, 1H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/isopropanol = 90/10, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm) *t<sub>R</sub>* (anti isomer) = 22.01 (minor), 29.76 (major), *t<sub>R</sub>* (syn isomer) = 16.08 (minor), 19.75 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>Na 272.08933; Found 272.08959.

**(S)-2-((R)-hydroxy(2-nitrophenyl)methyl)cyclohexanone 10b.** White solid. Yield : 20.4 mg, 82%, mp : 116-118 °C, *dr* (anti/syn) : 97:3, *ee* (anti/syn) : 69%/-, <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.87 (dd, *J* = 8.1, 1.3 Hz, 1H), 7.79 (dd, *J* = 8.0, 1.4 Hz, 1H), 7.62 - 7.71 (m, 1H), 7.40 - 7.51 (m, 1H), 5.47 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 2.72 - 2.84 (m, 1H), 2.43 - 2.53 (m, 1H), 2.30 - 2.42 (m, 1H), 2.07 - 2.20 (m, 1H), 1.83 - 1.94 (m, 1H), 1.48 - 1.83 (m, 4H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/isopropanol = 85/15, flow rate = 0.5 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm) *t<sub>R</sub>* (anti isomer) = 26.38 (minor), 24.52 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>Na 272.08933; Found 272.08995.

**(S)-2-((R)-hydroxy(3-nitrophenyl)methyl)cyclohexanone 10c.** Pale yellow solid. Yield : 18.9 mg, 77%, mp : 69-71 °C, *dr* (anti/syn) : 85:15, *ee* (anti/syn) : 67%/15%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 8.10 - 8.28 (m, 2H), 7.64 - 7.74 (m, 1H), 7.50 - 7.61 (m, 1H), 4.92 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.60 - 2.71 (m, 1H), 2.48 - 2.56 (m, 1H), 2.33 - 2.47 (m, 1H), 2.08 - 2.19 (m, 1H), 1.81 - 1.93 (m, 1H), 1.52 - 1.79 (m, 3H), 1.34 - 1.48 (m, 1H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 92/8, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm) *t<sub>R</sub>* (anti isomer) = 27.91 (minor), 21.90 (major), *t<sub>R</sub>* (syn isomer) = 17.87 (minor), 19.70 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>Na 272.08933; Found 272.09007.

**(S)-tetrahydro-3-((R)-hydroxy(4-nitrophenyl)methyl)pyran-4-one 10d.** Pale yellow oil. Yield : 24.9 mg, 99%, *dr (anti/syn)* : 83:17, *ee (anti/syn)* : 67%/15%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 8.19 - 8.29 (m, 2H), 7.48 - 7.59 (m, 2H), 5.01 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.17 - 4.35 (m, 1H), 3.68 - 3.83 (m, 2H), 3.48 (dd, *J* = 11.3, 9.9 Hz, 1H), 2.87 - 3.00 (m, 1H), 2.65 - 2.80 (m, 1H), 2.44 - 2.61 (m, 1H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 90/10, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm) *t<sub>R</sub>*(*anti* isomer) = 48.72 (minor), 57.36 (major), *t<sub>R</sub>*(*syn* isomer) = 30.63 (minor), 37.60 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>Na 274.06859; Found 274.06922.

**(R)-2-((S)-hydroxy(4-nitrophenyl)methyl)cycloheptanone 10e.** Colorless oil. Yield : 8.5 mg, 32%, *dr (anti/syn)* : 66:34, *ee (anti/syn)* : 16%/9%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 8.24 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.55 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 5.32 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 2.89 (dt, *J* = 10.5, 2.8 Hz, 1H), 2.41 - 2.75 (m, 2H), 1.18 - 2.00 (m, 8H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 80/20, flow rate = 0.5 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm) *t<sub>R</sub>*(*anti* isomer) = 39.93 (minor), 19.80 (major), *t<sub>R</sub>*(*syn* isomer) = 14.10 (minor), 16.57 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>Na 286.10498; Found 286.10443.

**(S)-2-((S)-hydroxy(4-nitrophenyl)methyl)cyclopentanone 10f.** Yellow solid. Yield : 8.5 mg, 71%, 88-90 °C, *dr (anti/syn)* : 37:63, *ee (anti/syn)* : 16%/rac; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 8.18 - 8.28 (m, 2H), 7.49 - 7.61 (m, 2H), 5.44 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 2.35 - 2.54 (m, 2H), 2.10 - 2.23 (m, 1H), 1.92 - 2.09 (m, 1H), 1.68 - 1.80 (m, 2H), 1.50 - 1.63 (m, 1H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 95/5, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 254 nm) *t<sub>R</sub>*(*anti* isomer) = 42.35 (minor), 45.73 (major), *t<sub>R</sub>*(*syn* isomer) = 33.70 (minor), 23.90 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>Ag 341.989; Found 341.98983.

**(S)-2-((R)-(2-chlorophenyl)(hydroxy)methyl)cyclohexanone 10g.** Colorless oil. Yield : 22.1 mg, 93%, *dr (anti/syn)* : >99:1, *ee (anti/syn)* : 89%/-; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.54 - 7.60 (m, 1H), 7.30 - 7.39 (m, 2H), 7.19 - 7.27 (m, 1H), 5.37 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 2.65 - 2.75 (m, 1H), 2.45 - 2.54 (m, 1H), 2.31 - 2.42 (m, 1H), 2.06 - 2.16 (m, 1H), 1.80 - 1.88 (m, 1H), 1.51 - 1.78 (m, 4H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/isopropanol = 90/10, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 215 nm) *t<sub>R</sub>*(*anti* isomer) = 11.92 (minor), 10.49 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>ClO<sub>2</sub>Na 261.06528; Found 261.0649.

**(S)-2-((R)-hydroxy(thiophen-2-yl)methyl)cyclohexanone 10h.** Pale yellow oil. Yield : 2.4 mg, 11%, *dr (anti/syn)* : 95:5, *ee (anti/syn)* : 85%/-; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.27 - 7.33 (m, 1H), 6.96 - 7.01 (m, 2H), 5.10 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.64 - 2.73 (m, 1H), 2.47 - 2.55 (m, 1H), 2.33 - 2.44 (m, 1H), 2.09 - 2.18 (m, 1H), 1.56 - 1.89 (m, 4H), 1.37 (qd, *J* = 12.8, 3.7 Hz, 1H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 90/10, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 215 nm) *t<sub>R</sub>* (*anti* isomer) = 15.18 (minor), 13.75 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>Na 233.06067; Found 233.06033.

**(S)-2-((R)-hydroxy(perfluorophenyl)methyl)cyclohexanone 10i.** White solid. Yield : 27 mg, 92%, 85-87 °C, *dr (anti/syn)* : >99:1, *ee (anti/syn)* : 88%/-; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 5.34 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 2.96 - 3.08 (m, 1H), 2.50 - 2.59 (m, 1H), 2.42 (td, *J* = 13.0, 6.2 Hz, 1H), 2.09 - 2.25 (m, 1H), 1.82 - 1.96 (m, 1H), 1.55 - 1.77 (m, 3H), 1.35 (qd, *J* = 12.6, 3.7 Hz, 1H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/isopropanol = 90/10, flow rate = 0.5 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 215 nm) *t<sub>R</sub>* (*anti* isomer) = 18.74 (minor), 14.86 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>F<sub>5</sub>O<sub>2</sub>Na 317.05714; Found 317.0561.

**(S)-2-((R)-hydroxy(naphtalen-3-yl)methyl)cyclohexanone 10j.** Colorless oil. Yield : 9.6 mg, 38%, *dr (anti/syn)* : 84:16, *ee (anti/syn)* : 77%/17%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.82 - 7.90 (m, 3H), 7.78 (s, 1H), 7.46 - 7.54 (m, 3H), 4.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.75 (ddd, *J* = 13.1, 7.9, 5.1 Hz, 1H), 2.50 - 2.57 (m, 1H), 2.35 - 2.47 (m, 1H), 2.06 - 2.16 (m, 1H), 1.49 - 1.84 (m, 4H), 1.32 - 1.43 (m, 1H), HPLC: (Chiralpak OD column, hexanes/2-propanol = 85/15, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 210 nm) *t<sub>R</sub>* (*anti* isomer) = 15.18 (minor), 12.10 (major), *t<sub>R</sub>* (*syn* isomer) = 6.67 (minor), 10.62 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>Na 277.1199; Found 277.11917.

**(S)-2-((R)-(4-bromophenyl)(hydroxymethyl)cyclohexanone 10k.** Colorless oil. Yield : 13.9 mg, 49%, *dr (anti/syn)* : 98:2, *ee (anti/syn)* : 83%/-; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.46 - 7.52 (m, 2H), 7.19 - 7.25 (m, 2H), 4.77 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.54 - 2.63 (m, 1H), 2.47 - 2.54 (m, 1H), 2.32 - 2.43 (m, 1H), 2.07 - 2.16 (m, 1H), 1.78 - 1.87 (m, 1H), 1.50 - 1.75 (m, 3H), 1.27 - 1.38 (m, 1H) HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 90/10, flow rate = 0.8 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 215 nm) *t<sub>R</sub>* (*anti* isomer) = 18.64 (minor), 22.70 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>BrO<sub>2</sub>Na 305.01476; Found 305.01351.

**(S)-2-((R)-(3-bromophenyl)(hydroxymethyl)cyclohexanone 10l.** Colorless oil. Yield : 19.8 mg, 70%, *dr (anti/syn)* : 78:22, *ee (anti/syn)* : 75%/13%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.51 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.44 (dt, *J*=7.1, 1.9 Hz, 1H), 7.21 - 7.26 (m, 2H), 4.76 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 2.55 - 2.64 (m, 1H), 2.47 - 2.54 (m, 1H), 2.32 - 2.44 (m, 1H), 2.08 - 2.16 (m, 1H), 1.79 - 1.88 (m, 1H), 1.51 - 1.77 (m, 4H), 1.29 - 1.39 (m, 1H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 98/2, flow rate = 0.5 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 215 nm) *t<sub>R</sub> (anti isomer)* = 74.51 (minor), 69.73 (major), *t<sub>R</sub> (syn isomer)* = 47.75 (minor), 39.50 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>BrO<sub>2</sub>Na 305.01476; Found 305.01424..

**(S)-2-((R)-(2,4-bis(trifluoromethyl)phenyl)(hydroxymethyl)cyclohexanone 10m.** Colorless oil. Yield : 27.1 mg, 80%, *dr (anti/syn)* : >99:1, *ee (anti/syn)* : 88%/–; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.85 - 7.95 (m, 3H), 5.32 - 5.39 (m, 1H), 2.70 - 2.81 (m, 1H), 2.50 - 2.59 (m, 1H), 2.34 - 2.46 (m, 1H), 2.08 - 2.19 (m, 1H), 1.82 (dd, *J* = 13.2, 1.3 Hz, 1H), 1.70 (qt, *J* = 13.0, 3.9 Hz, 1H), 1.50 - 1.63 (m, 1H), 1.36 - 1.48 (m, 2H), <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz): δ = 212.6, 146.6, 130.7, 130.3 - 130 (d, *J* = 24.7 Hz), 129.4 (d, *J* = 2.3 Hz), 128.9 - 128.6 (d, *J* = 23.2 Hz), 125.3 - 125.2 (d, *J* = 7.7 Hz), 122.6 - 122.5 (d, *J* = 6.1 Hz), 122.3, 67.4, 57.9, 42.6, 31.5, 28.7, 24.8, HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 90/10, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 215 nm) *t<sub>R</sub> (anti isomer)* = 6.92 (minor), 8.08 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>F<sub>6</sub>O<sub>2</sub>Na 363.07902; Found 363.07848.

**(3S,4R)-4-hydroxy-3-methyl-4-(4-nitrophenyl)butan-2-one 10n.** Colorless oil. 12.9 mg, 58%, *dr (anti:syn)* : 62:38, *ee (anti/syn)* : 76%/42% , <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 8.22 - 8.25 (m, 2H), 7.53 - 7.57 (m, 2H), 4.89 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 2.93 (qt, 1H), 2.83 - 2.85 (m, 1H), 2.49 - 2.51 (m, 1H), 2.23 (s, 3H), 1.05 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), HPLC: (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 70/30, flow rate = 0.5 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 215 nm) *t<sub>R</sub> (anti isomer)* = 22.01 (minor), 18.19 (major), *t<sub>R</sub> (syn isomer)* = 16.78 (minor), 20.83 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>Na 246.07368; Found 246.07356.

## 2.2.6 Supporting information

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra, HPLC traces, and crystallographic data for compound 4. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

## 2.2.7 Author information

The authors declare no competing financial interest.

## 2.2.8 Acknowledgments

This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies, the Centre of Green Chemistry and Catalysis, the Canada Foundation for Innovation, and the Université de Montréal. We thank Augusto César Hernandez Perez for the 2-naphthaldehyde and our colleagues for careful discussions of this manuscript.

## 2.2.9 References

- 1 Dalko, P. I.; Moisan, L., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40* (20), 3726.
- 2 Erkkila, A.; Majander, I.; Pihko, P. M., *Chem. Rev.* **2007**, *107* (12), 5416.
- 3 Mukherjee, S.; Yang, J. W.; Hoffmann, S.; List, B., *Chem. Rev.* **2007**, *107* (12), 5471.
- 4 Bertelsen, S.; Jorgensen, K. A., *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38* (8), 2178.
- 5 Wang, Y.; Li, H.; Wang, Y. Q.; Liu, Y.; Foxman, B. M.; Deng, L., *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129* (20), 6364.
- 6 Hong, B. C.; Wu, M. F.; Tseng, H. C.; Liao, J. H., *Org. Lett.* **2006**, *8* (11), 2217.
- 7 Mori, K.; Katoh, T.; Suzuki, T.; Noji, T.; Yamanaka, M.; Akiyama, T., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48* (51), 9652.
- 8 Jones, R. A.; Krische, M. J., *Org. Lett.* **2009**, *11* (8), 1849.
- 9 Knowles, R. R.; Carpenter, J.; Blakey, S. B.; Kayano, A.; Mangion, I. K.; Sinz, C. J.; Macmillan, D. W., *Chem. Sci.* **2011**, *2011* (2), 308.
- 10 Hajos, Z. G.; Parrish, D. R., *J. Org. Chem.* **1974**, *39* (12), 1612.
- 11 Moyano, A.; Rios, R., *Chem. Rev.* **2011**, *111* (8), 4703.
- 12 Welton, T., *Chem. Rev.* **1999**, *99* (8), 2071.
- 13 Parvulescu, V. I.; Hardacre, C., *Chem. Rev.* **2007**, *107* (6), 2615.
- 14 Sowmiah, S.; Srinivasadesikan, V.; Tseng, M. C.; Chu, Y. H., *Molecules* **2009**, *14* (9), 3780.
- 15 Pégot, B.; Vo-Thanh, G.; Gori, D.; Loupy, A., *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45* (34), 6425.
- 16 Gausepohl, R.; Buskens, P.; Kleinen, J.; Bruckmann, A.; Lehmann, C. W.; Klankermayer, J.; Leitner, W., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45* (22), 3689.
- 17 Lombardo, M.; Pasi, F.; Easwar, S.; Trombini, C., *Adv. Synth. & Catal.* **2007**, *349* (11-12), 2061.
- 18 Guo, H. M.; Cun, L. F.; Gong, L. Z.; Mi, A. Q.; Jiang, Y. Z., *Chem. Commun.* **2005**, (11), 1450.
- 19 Bica, K.; Gaertner, P., *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008* (19), 3235.

- 20 Hu, S.; Jiang, T.; Zhang, Z.; Zhu, A.; Han, B.; Song, J.; Xie, Y.; Li, W., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48* (32), 5613.
- 21 Qian, Y.; Zheng, X.; Wang, Y., *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010* (19), 3672.
- 22 Swatloski, R. P.; Holbrey, J. D.; Rogers, R. D., *Green Chem.* **2003**, *5* (4), 361.
- 23 Hernandez, J. G.; Juaristi, E., *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (5), 1464.
- 24 Wu, C.; Fu, X.; Li, S., *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011* (7), 1291.
- 25 Yang, H.; Mahapatra, S.; Cheong, P. H.; Carter, R. G., *J. Org. Chem.* **2010**, *75* (21), 7279.
- 26 Gauchot, V.; Kroutil, W.; Schmitzer, A. R., *Chem. - Eur. J.* **2010**, *16* (23), 6748.



## **Chapitre 3 : Réaction d'addition de Michael catalysée par l'anion d'un sel d'imidazolium**

### 3.1 Préface

Les études concluantes de l'activité des catalyseurs préparés au Chapitre 2 ont motivé les recherches présentées dans ce chapitre. La réaction d'addition de Michael peut également être catalysée par la L-proline et ses dérivés, en passant par un intermédiaire réactionnel de type ène-amine. Elle représente donc une réaction modèle de choix pour tester l'étendue des applications des sels d'imidazolium catalytiques. De façon similaire au Chapitre 2, le comportement du catalyseur en milieu liquide ionique et l'apport de chiralité par l'anion est discuté dans ce chapitre.

Sous mon encadrement, Julien Gravel a étudié l'influence de la concentration sur la réaction, dressé la totalité de la table de substrats, excepté le composé **9h**, et a effectué une partie de la caractérisation des molécules synthétisées.

Ma contribution dans cet article a été de réaliser les études méthodologiques de solvants, d'additifs, d'étudier l'influence du pourcentage de catalyseur sur la réaction, ainsi qu'une partie de la caractérisation. J'ai entièrement rédigé la première version de ce manuscrit.

Les informations supplémentaires de cet article sont situées aux pages 177-181 de ce document.

## **3.2 Article 2 : Asymmetric Michael Addition Induced by the Anion of an Imidazolium Salt**

Vincent Gauchot, Julien Gravel and Andreea R. Schmitzer

Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128 Succursale Centre-ville, Montréal, Québec, H3C 3J7, Canada

*European Journal of Organic Chemistry*, **2012**, 31, 6280-6284

Reprinted with minor corrections, with permission from *The European Journal of Organic Chemistry*, Vincent Gauchot, Julien Gravel, and Andreea R. Schmitzer, « Asymmetric Michael Addition induced by the anion of an ionic liquid », **2012**, 31, 6280-6284. Copyright (2012) Wiley-VCH.

### 3.2.1 Abstract

We describe the application of a chiral catalytic imidazolium salt derived from *trans*-L-hydroxyproline, the anion being the catalytic entity, as a catalyst for the asymmetric Michael addition. We report the first example of a catalytic Michael addition using this type of catalyst, leading to excellent yields (up to 99%) and good selectivities (up to 99:1 *dr* up to 82% *ee*).

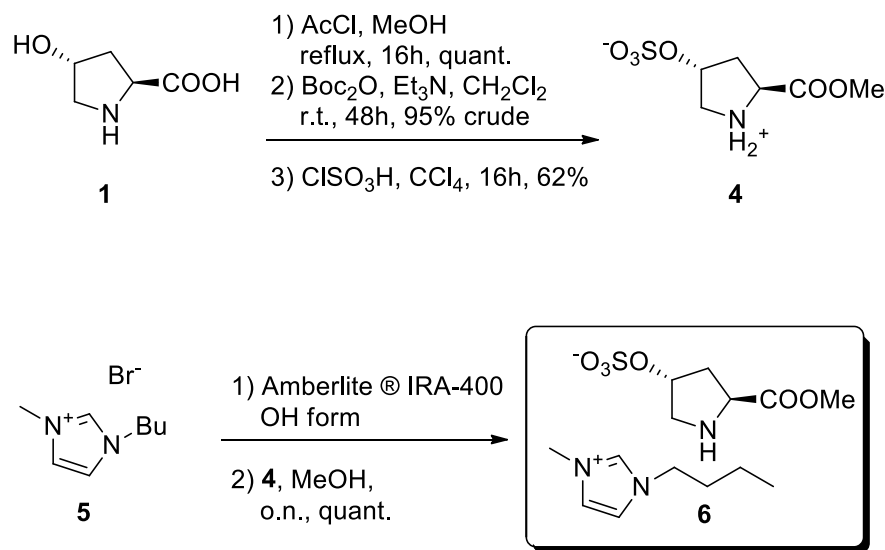
### 3.2.2 Introduction

Organocatalysis, or the use of small organic molecules as catalysts, has been gaining extensive interest over the past decade. It is now considered the third pillar of catalysis, alongside metal catalysis and biocatalysis. Since the Hajos–Parrish–Eder–Wiechert–Sauer reaction,<sup>1-3</sup> both enamine and iminium catalysis have become two key concepts in aminocatalysis.<sup>4-6</sup> Their applications in organic synthesis are numerous, as in inter- and intramolecular bond-forming reactions,<sup>7-8</sup> cycloaddition reactions,<sup>9-10</sup> and cascade sequences.<sup>11</sup> Michael addition is one of the most frequently used C–C bond-forming reactions in organic synthesis and is easily one of the most powerful. Several examples using either organocatalysis or transition-metal catalysis have been reported.<sup>12-14</sup> The first example of a Michael addition through enamine catalysis was reported in 2001 where List *et al.* described the addition of unmodified ketones to nitroolefins, leading to modest enantioselectivity (up to 23%*ee*).<sup>15</sup> Ionic liquids (ILs) have gained interest over the last decades as potential environmentally friendly substitutes of classical solvents.<sup>16-19</sup> The attractive properties of these ILs have made them powerful tools for catalysis, where they are used as solvents<sup>20-22</sup> or even as catalysts. Many examples of cation-functionalized catalytic ILs have been reported in the literature,<sup>23-24</sup> but to the best of our knowledge, only two examples of anion-functionalized catalytic ILs have been reported.<sup>25-26</sup> The most recent example described an imidazolium salt bearing a proline-derived counteranion (Emim[Pro]), which was used in a Michael addition through an enamine mechanism. The authors reported very good selectivities, but at the cost of 200 mol-% of this imidazolium salt.<sup>27</sup> We report here a

convenient and green method for asymmetric catalytic Michael addition using this type of anionic catalysis.

### 3.2.3 Results and discussion

We report here an IL anion catalyzed Michael addition using an imidazolium salt with a hydroxyproline-derived counteranion. The synthesis of our catalyst began with readily available *trans*-L-hydroxyproline, which was esterified. The amine function was then protected with a Boc group and the alcohol moiety was sulfonated to afford zwitterion **4** as a white powder (Scheme 3.1).<sup>28</sup>

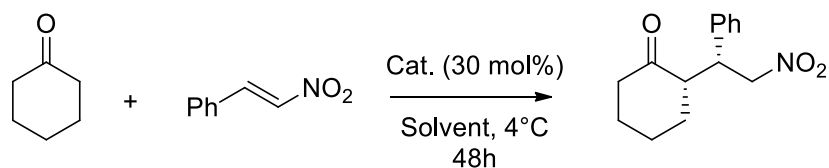


**Scheme 3.1** : Synthesis of the catalyst

Anion metathesis between 1-butyl-3-methyl imidazolium bromide (Bmim[Br]) **5** and **4** required the preformation of Bmim[OH] using the Amberlite IRA-400 OH form resin. The ionic exchange proceeded smoothly to afford catalyst **6** as a viscous oil. On the basis of previous work done in our group, we applied catalyst **6** to typical Michael addition conditions by using cyclohexanone and *trans*- $\beta$  nitrostyrene under neat conditions. We were gratified to observe that after 2 days of reaction, we obtained the Michael adduct in 62% yield with modest selectivity (85:15 *dr* and 99% *ee* for the minor isomer). This encouraged us to further investigate the main parameters of this reaction to increase its efficiency. Several solvents were tested for the Michael addition, from common organic solvent to ILs. In terms of

selectivities, whereas organic solvents led to a significant improvement relative to neat conditions (similar results for polar and nonpolar solvents), ILs proved to be more efficient as solvents for this model reaction (Table 3.1).

**Table 3.1** : Solvent screening



Entry	Solvent	Yield (%)	<i>dr</i> (syn:anti) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (syn/anti) <sup>b</sup>
1	Bmim[BF <sub>4</sub> ]	85	92:8	26/>99
2	Bmim[PF <sub>6</sub> ]	92	90:10	32/96
3	Bmim[NTf <sub>2</sub> ]	92	96:4	26/>99
4	MeOH	78	86:14	-10/94
5	DCM	83	90:10	rac./>99
6	DMF	92	90:10	8/- <sup>c</sup>
7	DMSO	73	87:13	32/94
8	Neat	62	85:15	rac./>99

Reaction conditions: Cyclohexanone (1 mmol) and the catalyst (30 mol-%) were stirred in the solvent (0.3 mL) for 30 min at 4 °C. *trans*-β-nitrostyrene (0.1 mmol) was added, and the reaction mixture was stirred for 48 h at 4 °C. <sup>a</sup> Determined by NMR spectroscopy. <sup>b</sup> Determined by chiral HPLC analysis. <sup>c</sup> Not determined.

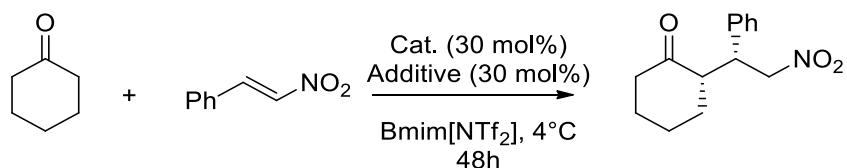
Higher *dr* and *ee* values for the minor isomer were achieved when using ILs or DMSO, and better conversions were obtained under the same conditions. A concentration study was also performed. These results showed that an increase in the concentration of the reaction led to no change or only slightly lower *ee* and *dr* values. The initial concentration setup (0.33 M) was thus retained for further experiments in light of its yield and experimental convenience (Table 3.2).

**Table 3.2** : Concentration studies

Entry	[Substrate]	Yield (%)	<i>dr</i> (syn:anti) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (syn/anti) <sup>b</sup>
1	0.33 M	92	89:11	26/>99
2	0.4 M	94	89:11	16/76
3	0.5 M	83	89:11	20/76
4	0.66 M	84	90:10	24/49
5	1.0 M	82	90:10	22/60

<sup>a</sup> Determined by NMR spectroscopy. <sup>b</sup> Determined by chiral HPLC analysis.

The formation of the enamine intermediate between the catalyst and the cyclohexanone is the key step of the reaction, and several acidic additives were tested on the model reaction (Table 3.3).

**Table 3.3** : Influence of additives

Entry	Additive	Yield (%)	<i>dr</i> (syn:anti) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (syn/anti) <sup>b</sup>
1	None	82	92:8	26/>99
2	<i>p</i> -TSA	94	88:12	14/59
3	3,5 – DNBA	99	91:9	42/>99
4	Benzoic acid	83	89:11	34/>99
5	Acetic acid	97	91:9	29/>99

<sup>a</sup> Determined by NMR spectroscopy. <sup>b</sup> Determined by chiral HPLC analysis.

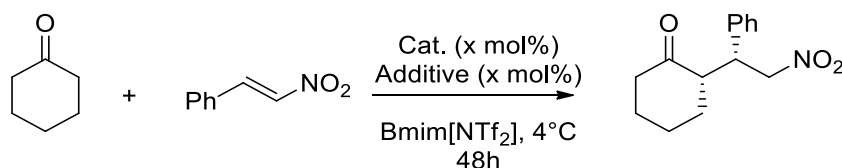
Surprisingly, not only was the reaction rate enhanced, but when bulky acids like 3,5-dinitrobenzoic acid or benzoic acid were used, the selectivities for the major stereoisomer increased up to 42% *ee* (Table 3.3, Entry 3), while maintaining an excellent selectivity for

the minor isomer. These results contrast with our previous report on the effect of additives on the aldol reaction, using **6** as the catalyst, where the presence of acid would decrease the observed selectivity. In both cases, the presence of an acidic additive will promote the formation of the reactive enamine intermediate. However, in the case of the aldol reaction, the acid would be able to promote an Lewis-acid catalyzed aldol reaction, leading to the formation of a racemate. Deeper investigations regarding this matter will be considered in our group.

A reasonable hypothesis would be that 3,5- dinitrobenzoic acid not only raises the reaction rate, but also participates in the transition state, adding more steric hindrance to the enamine intermediate, thus making the approach of the substrate more selective. No experimental evidence of such control has yet been obtained.

Control experiments were also carried out to evaluate the effect of the acidity of 3,5- dinitrobenzoic acid (3,5 - DNBA) on the reaction rate when used as an additive. Protonation of the counterion could lead to an anion metathesis *in situ* and thus to the formation of zwitterion **4**, that is, to catalyst degradation. Two catalytic tests with 3,5-DNBA and zwitterion **4**, respectively, in the absence of the catalyst were carried out. Neither of these two reactions gave the Michael adduct after 48 h, which confirmed the degradation possibility. To attempt to further increase the selectivity of the reaction, the loading of the catalyst was varied.

**Table 3.4** : Catalyst loading



Entry	X	Yield (%)	<i>dr</i> (syn:anti) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (syn) <sup>b</sup>
1	200 mol %	91	91:9	35
2	30 mol %	99	91:9	42
3	20 mol %	81	89:11	38
4	10 mol %	74	89:11	41

<sup>a</sup> Determined by NMR spectroscopy. <sup>b</sup> Determined by chiral HPLC analysis.

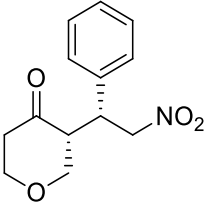
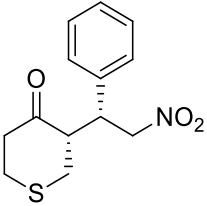
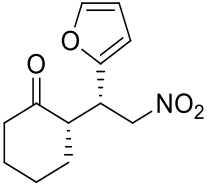
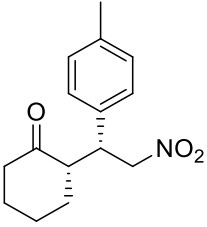
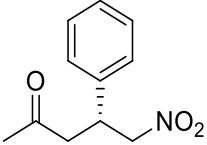


As previously mentioned, the first example of a Michael addition catalyzed by the anion of an IL required 200 mol-% of IL.<sup>27</sup> The same amount of our catalyst in the model reaction did not improve the yield or selectivity, except that the reaction was much faster (completion of the reaction observed by TLC analysis after 6 h). Decreasing the catalyst loading to 20- or 10 mol-% predictably led to lower yields, but the selectivities were the same as those obtained under the previous conditions.

A variety of substrates were then tested under the optimized reaction conditions (Table 3.5).

**Table 3.5** : Substrate scope

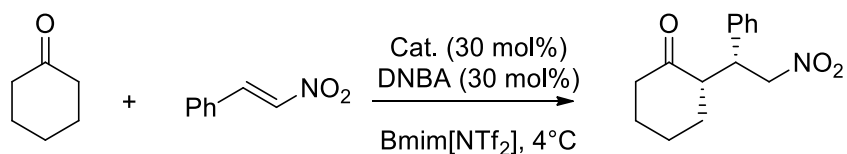
Entry	Product	Yield (%)	<i>dr</i> (syn:anti) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (syn) <sup>b</sup>
9a		99	91:9	42
9b		61	75:25	54
9c		99	95:5	35

9d		92	91:9	42
9e		98	99:1	35
9f		81	91:9	82
9g		89	92:8	48
9h		96	-	43

<sup>a</sup> Determined by NMR spectroscopy. <sup>b</sup> Determined by chiral HPLC analysis.

Every Michael adduct was obtained in good to excellent yields with modest to very good selectivities. Surprisingly, a dramatic lack of selectivity was observed when using acetone (Table 3.5, entry 8). The absence of a blocked conformation and less steric discrimination would explain the poor results in this case.

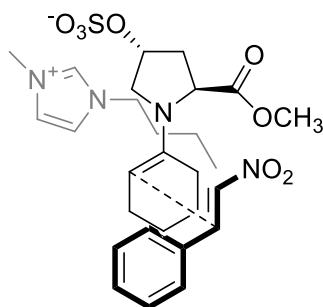
We explored the recyclability of our system under the optimized conditions (Table 3.6). Results after four catalytic cycles show only a slight decrease in activity (Table 6, Entries 1–4). Allowing the reaction to stir another 12 h for the fifth cycle (Table 3.6, Entry 5) led to completion of the reaction, showing that the catalyst is completely active after five runs.

**Table 3.6** : Recycling tests

Entry	Time (h)	Conversion (%)	<i>ee</i> (syn) <sup>a</sup>
1	36	>99	39 %
2	36	96	32 %
3	48	87	32 %
4	48	91	44 %
5	60	>99	40 %

<sup>a</sup> Determined by chiral HPLC analysis.

On the basis of the observed selectivity, a transition state can be proposed to explain the formation of the major *syn* enantiomer. Steric hindrance would be the major factor that governs the most favorable approach of the aldehyde towards the enamine complex. The bulkiness of the imidazolium cation, located near the negative charge of the proline derivative, would prevent the aldehyde from approaching from the sulfonate side (Figure 3.1).

**Figure 3.1** : Proposed transition state

### 3.2.4 Conclusions

In conclusion, we disclosed here the first catalytic Michael addition using a catalyst involving the anion of an IL. Various Michael adducts were obtained in excellent yields with

modest to very good selectivities using only 30 mol-% of our imidazolium salt. Recycling studies when using an IL as the solvent showed that the catalyst is still active after five catalytic runs, with only a small decrease in activity, which could be attributed to the variation of the product concentration in the reaction medium and not to the catalyst itself. Synthesis of new catalytic anions for this type of “anionic” catalysis is ongoing in our research group to broaden the scope of this methodology to other organic reactions.

### 3.2.5 Experimental section

All organic compounds were purchased from Aldrich Chemicals in their highest available purity and used without further purification. Analytical- and HPLC-grade solvents for workup and purification procedures and HPLC analysis were purchased from commercial suppliers and used as received. Anhydrous solvents were obtained by filtration through drying columns with a Glass- Contour system (Irvine, CA). Analytical thin-layer chromatography (TLC) was performed on glass-backed silica plates (Merck 60 F254). Visualization of the developed chromatogram was performed by UV absorbance or staining with cerium ammonium molybdate. Silica gel chromatography was performed by using 230–400 mesh silica (Silicycle). Deuterated solvents were purchased from CDN Isotopes. <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR spectra were recorded with a Bruker spectrometer at 400 or 300 and 100 or 75 MHz, respectively, in the indicated solvent. Chemical shifts are reported in ppm with internal reference to deuterated solvent. High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded with a LC-MSD-TOF instrument from Agilent technologies in positive electrospray mode in general at the Centre regional de spectrométrie de masse de l’Université de Montréal. All HPLC analysis was done by using Chiralpak AD or OD columns with an Agilent 1100 system. Absolute configurations of the aldol products were based on previously reported literature.<sup>29-31</sup> Ionic liquids used as solvents were prepared as already described.<sup>22</sup> The catalyst was synthesized accordingly to previously reported procedures.<sup>28</sup>

#### 3.2.5.1 General Procedure for the asymmetric Michael addition:

Cyclohexanone (103.5  $\mu$ L, 10 eq.) was introduced in a vial containing the catalyst (10.9 mg, 30 mol-%) in Bmim[NTf<sub>2</sub>] (0.3 mL), and the mixture was stirred for 30 min at 4 °C before *trans*- $\beta$ -nitrostyrene (14.9 mg, 1 eq.) was added to the reaction medium. The

mixture was then vigorously stirred at 4 °C until completion (monitored by TLC). The mixture was then directly purified by flash chromatography (hexanes/EtOAc = 95:5 then 65:35) to give the product as a white solid (24.5 mg, 99%). Diastereomeric ratio (91:9 syn/anti) was determined by <sup>1</sup>H NMR spectroscopy and enantiomeric excess (42%/\_99% syn/anti) was determined by chiral HPLC (Chiralpak AD column, hexanes/2-propanol = 95:5, flow rate = 1 mL.min<sup>-1</sup>, λ = 206 nm): *t<sub>R</sub>* (*anti* isomer) = 12.81 (minor), 15.37 min (major).

### 3.2.5.2 Characterization

**(S)-2-((R)-2-nitro-1-phenylethyl)cyclohexanone 9a.** Yield: 24.5 mg, >99%, *dr* (*syn/anti*) : 91:9, *ee* (*syn/anti*) : 42%/>99%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.24 - 7.40 (m, 3 H), 7.12 - 7.23 (m, 2 H), 4.92 - 5.02 (m, 1 H), 4.66 (dd, *J* = 12.4, 9.9 Hz, 1 H), 3.78 (td, *J* = 9.9, 4.6 Hz, 1 H), 2.66 - 2.82 (m, 1 H), 2.35 - 2.55 (m, 2 H), 2.10 (dtt, *J* = 12.8, 6.3, 3.4 Hz, 1 H), 1.52 - 1.88 (m, 4 H), 1.16 - 1.35 ppm (m, 1 H).HPLC (Chiralpak AD column, Hexanes/2-propanol = 95/5, flow rate = 1 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 206 nm) *t<sub>R</sub>* (*syn* isomer) = 12.81 (minor), 15.37 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>3</sub>: 248.12812; Found 248.12816.

**(S)-2-((R)-2-nitro-1-phenylethyl)cyclopentanone 9b.** Yield: 14.2 mg, 61%, *dr* (*syn/anti*) : 75:25, *ee* (*syn/anti*) : 54%/31%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.25 - 7.42 (m, 3 H), 7.08 - 7.25 (m, 2 H), 5.36 (dd, *J* = 12.8, 5.5 Hz, 1 H), 4.74 (dd, *J* = 12.9, 10.0 Hz, 1 H), 3.72 (td, *J* = 9.4, 5.6 Hz, 1 H), 2.32 - 2.49 (m, 2 H), 2.08 - 2.24 (m, 1 H), 1.59 - 2.02 (m, 3 H), 1.42 - 1.59 ppm (m, 1 H), HPLC (Chiralpak AD column, Hexanes/2-propanol = 90/10, flow rate = 0.5 ml.min<sup>-1</sup>, λ = 206 nm) *t<sub>R</sub>* (*syn* isomer) = 18.19 (minor), 19.93 (major), *t<sub>R</sub>* (*anti* isomer) = 16.32 (minor), 26.80 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>Na: 256.09441; Found 256.09503.

**(S)-2-((R)-2-nitro-1-phenylethyl)cycloheptanone 9c.**Yield: 25.6 mg, 99%, *dr* (*syn/anti*) : 95:5, *ee* (*syn/anti*) : 35%/55%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.25 - 7.45 (m, 3 H), 7.10 - 7.25 (m, 2 H), 4.58 - 4.75 (m, 2 H), 3.70 (ddd, *J* = 10.2, 8.3, 5.3 Hz, 1 H), 3.03 (td, *J* = 10.3, 3.4 Hz, 1 H), 2.48 - 2.64 (m, 2 H), 1.56 - 2.01 (m, 5 H), 1.12 - 1.37 ppm (m, 3 H), HPLC (Chiralpak AD column, Hexanes/2-propanol = 95/5, flow rate = 0.3 ml.min<sup>-1</sup>, λ =

206 nm)  $t_R$  (*syn* isomer) = 32.78 (minor), 42.70 (major),  $t_R$  (*anti* isomer) = 36.48 (minor), 39.30 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>Na: 284.12571; Found 284.15656.

**(R)-tetrahydro-3-((R)-2-nitro-1-phenylethyl)pyran-4-one 9d.** Yield: 26.1 mg, 98%, *dr* (*syn/anti*) : 91:9, *ee* (*syn/anti*) : 42%/40%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 7.17 - 7.45 (m, 5 H), 4.91 - 5.03 (m, 1 H), 4.67 (dd, *J* = 12.7, 10.2 Hz, 1 H), 4.11 - 4.23 (m, 1 H), 3.75 - 3.91 (m, 2 H), 3.64 - 3.75 (m, 1 H), 3.29 (dd, *J* = 11.5, 8.8 Hz, 1 H), 2.90 (dddd, *J* = 10.6, 9.1, 5.4, 1.1 Hz, 1 H), 2.64 - 2.75 (m, 1 H), 2.55 - 2.63 ppm (m, 1 H), HPLC (Chiralpak AD column, Hexanes/2-propanol = 95/5, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 206 nm)  $t_R$  (*syn* isomer) = 27.37 (minor), 57.34 (major),  $t_R$  (*anti* isomer) = 26.66 (minor), 31.01 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>Na: 272.08933; Found 272.08989.

**(S)-tetrahydro-3-((R)-2-nitro-1-phenylethyl)thiopyran-4-one 9e.** Yield: 26.1 mg, 98%, *dr* (*syn/anti*) : 99:1, *ee* (*syn/anti*) : 35%/12%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 7.17 - 7.44 (m, 5 H), 4.72 - 4.82 (m, 1 H), 4.58 - 4.71 (m, 1 H), 4.00 (td, *J* = 10.2, 4.6 Hz, 1 H), 2.92 - 3.12 (m, 3 H), 2.77 - 2.92 (m, 2 H), 2.58 - 2.68 (m, 1 H), 2.38 - 2.56 ppm (m, 1 H), HPLC (Chiralpak AD column, Hexanes/2-propanol = 85/15, flow rate = 1.0 ml.min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 254 nm)  $t_R$  (*syn* isomer) = 10.68 (minor), 24.71 (major),  $t_R$  (*anti* isomer) = 18.04 (minor), 13.12 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>Na: 288.06649; Found 288.06696.

**(S)-2-((S)-1-(furan-2-yl)-2-nitroethyl)cyclohexanone 9f.** Yield: 19.3 mg, 81%, *dr* (*syn/anti*) : 91:9, *ee* (*syn/anti*) : 82%/-; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 7.32 - 7.42 (m, 1 H), 6.26 - 6.36 (m, 1 H), 6.15 - 6.24 (m, 1 H), 4.76 - 4.89 (m, 1 H), 4.62 - 4.74 (m, 1 H), 3.99 (td, *J* = 9.2, 4.8 Hz, 1 H), 2.70 - 2.83 (m, 1 H), 2.29 - 2.54 (m, 2 H), 2.04 - 2.22 (m, 1 H), 1.56 - 1.91 (m, 4 H), 1.22 - 1.37 ppm (m, 1 H), HPLC (Chiralpak AD column, Hexanes/2-propanol = 96/4, flow rate = 0.5 ml.min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 254 nm)  $t_R$  (*syn* isomer) = 35.96 (minor), 29.60 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>Na: 260.08933; Found 260.08974.

**(S)-2-((R)-2-nitro-1-p-tolyethyl)cyclohexanone 9g.** Yield: 23.2 mg, 89%, *dr* (*syn/anti*) : 92:8, *ee* (*syn/anti*) : 48%/58%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 7.11 - 7.19 (m, 2 H), 7.02 - 7.10 (m, 2 H), 4.94 (dd, *J* = 12.4, 4.6 Hz, 1 H), 4.63 (dd, *J* = 12.4, 9.9 Hz, 1 H), 3.74 (td, *J* = 10.1, 4.6 Hz, 1 H), 2.69 (td, *J* = 10.9, 4.2 Hz, 1 H), 2.46 - 2.53 (m, 1 H), 2.36 - 2.45 (m, 1 H), 2.33 (s, 3 H), 2.09 (ddt, *J* = 12.8, 6.4, 2.9 Hz, 1 H), 1.51 - 1.85 (m, 4 H), 1.19

- 1.32 ppm (m, 1 H), HPLC (Chiralpak AD column, Hexanes/2-propanol = 98/2, flow rate = 0.3 ml.min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 206 nm)  $t_R$  (*syn* isomer) = 57.38 (minor), 74.37 (major),  $t_R$  (*anti* isomer) = 64.01 (minor), 70.29 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>Na: 284.12571; Found 284.12478.

**(S)-2-((R)-1-(2,3-dimethoxyphenyl)-2-nitroethyl)cyclohexanone 9h.** Yield: 19.9 mg, 96, *ee* : 4%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 7.30 - 7.35 (m, 5 H), 4.60 - 4.74 (qd,  $J$  = 12.3, 6.8 Hz, 2 H), 4.00 - 4.06 (q,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H), 2.93 - 2.95 (d,  $J$  = 7.0 Hz, H), 2.14 (s, 3 H), HPLC (Chiralpak AD column, Hexanes/2-propanol = 95/5 flow rate = 0.5 ml.min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 215 nm)  $t_R$  = 28.47 (minor), 30.54 min (major), HRMS (ESI) Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>Na:230.07931; Found 230.07782.

### 3.2.5.3 Recycling procedure:

The first catalytic run was carried out with cyclohexanone and trans- $\beta$ -nitrostyrene by using the described conditions. After 36 h, 5  $\mu$ L of the reaction mixture were dissolved in hexanes/EtOAc (1:1, 0.5 mL), and the yield and enantiomeric excess were analyzed by chiral HPLC (Chiralpak AD column, hexanes/ 2-propanol = 95:5, flow rate = 1 mL.min<sup>-1</sup>,  $\lambda$  = 254 nm). Starting material was introduced in the reaction vial after the completion of each catalytic cycle.

### 3.2.6 Supporting information

(See footnote on the first page of this article): Copies of the <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR spectra and HPLC traces for the Michael adducts.

### 3.2.7 Acknowledgements

This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies (FQRNT), the Centre of Green Chemistry and Catalysis, the Canada Foundation for Innovation (CFI), and the Université de Montréal. We also thank colleagues for careful reading and discussion of this manuscript.

### 3.2.8 References

- 1 Hajos, Z. G.; Parrish, D. R., *J. Org. Chem.* **1974**, *39* (12), 1612.
- 2 Eder, U.; Sauer, G.; Wiechert, R., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1971**, *10* (7), 496.
- 3 Dalko, P. I.; Moisan, L., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40* (20), 3726.
- 4 Moyano, A.; Rios, R., *Chem. Rev.* **2011**, *111* (8), 4703.
- 5 Erkkila, A.; Majander, I.; Pihko, P. M., *Chem. Rev.* **2007**, *107* (12), 5416.
- 6 Mukherjee, S.; Yang, J. W.; Hoffmann, S.; List, B., *Chem. Rev.* **2007**, *107* (12), 5471.
- 7 Kwak, M. Y.; Kwon, S. H.; Cho, C. W., *Bull. Korean Chem. Soc.* **2009**, *30* (11), 2799.
- 8 Desmarchelier, A.; Marrot, J.; Moreau, X.; Greck, C., *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9* (4), 994.
- 9 Wilson, R. M.; Jen, W. S.; Macmillan, D. W., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (33), 11616.
- 10 Karlsson, S.; Högberg, H.-E., *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *2003* (15), 2782.
- 11 Grondal, C.; Jeanty, M.; Enders, D., *Nat. Chem.* **2010**, *2* (3), 167.
- 12 Hayashi, Y.; Gotoh, H.; Tamura, T.; Yamaguchi, H.; Masui, R.; Shoji, M., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (46), 16028.
- 13 Vo, N. T.; Pace, R. D.; O'Hara, F.; Gaunt, M. J., *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130* (2), 404.
- 14 Mori, K.; Katoh, T.; Suzuki, T.; Noji, T.; Yamanaka, M.; Akiyama, T., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48* (51), 9652.
- 15 List, B.; Pojarliev, P.; Martin, H. J., *Org. Lett.* **2001**, *3* (16), 2423.
- 16 Welton, T., *Chem. Rev.* **1999**, *99* (8), 2071.
- 17 Sowmiah, S.; Srinivasadesikan, V.; Tseng, M. C.; Chu, Y. H., *Molecules* **2009**, *14* (9), 3780.
- 18 M. Earle; P. Wasserscheid; P. Schulz; H. Olivier-Bourbigou; F. Favre; M. Vaultier; A. Kirshing; V. Singh; A. Riisager; Ferhmann, R.; Kulhmann, S., *Ionic Liquids in Synthesis* **2008**, 265.
- 19 Dupont, J.; de Souza, R. F.; Suarez, P. A. Z., *Chem. Rev.* **2002**, *102* (10), 3667.
- 20 Jeong, Y.; Ryu, J. S., *J. Org. Chem.* **2010**, *75* (12), 4183.
- 21 Yin, P.; Loh, T. P., *Org. Lett.* **2009**, *11* (17), 3791.
- 22 Gauchot, V.; Kroutil, W.; Schmitzer, A. R., *Chem. - Eur. J.* **2010**, *16* (23), 6748.
- 23 Chakraborti, A. K.; Roy, S. R., *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (20), 6902.
- 24 Bica, K.; Gaertner, P., *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008* (19), 3235.
- 25 Hu, S.; Jiang, T.; Zhang, Z.; Zhu, A.; Han, B.; Song, J.; Xie, Y.; Li, W., *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48* (32), 5613.
- 26 Qian, Y.; Zheng, X.; Wang, Y., *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010* (19), 3672.
- 27 Qian, Y.; Xiao, S.; Liu, L.; Wang, Y., *Tetrahedron - Asymmetry* **2008**, *19* (13), 1515.
- 28 Gauchot, V.; Schmitzer, A. R., *J. Org. Chem.* **2012**, *77* (11), 4917.
- 29 Hernandez, J. G.; Juaristi, E., *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (5), 1464.
- 30 Wu, C.; Fu, X.; Li, S., *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011* (7), 1291.
- 31 Yang, H.; Mahapatra, S.; Cheong, P. H.; Carter, R. G., *J. Org. Chem.* **2010**, *75* (21), 7279.



**Chapitre 4 : Inclusion d'un sel d'imidazolium catalytique dans l'avidine : vers un nouveau type de catalyseur bio-hybride.**

## 4.1 Préface

Le développement de plusieurs sels d'imidazolium biotinylés possédant un anion de type dérivé pyrrolidine est rapporté dans ce chapitre. Leur encapsulation dans l'avidine, basée sur le concept du complexe biotine-avidine et l'utilisation de ces nouveaux catalyseurs bio-hybrides pour une réaction d'aldol en milieu liquide ionique sont décrites dans ce chapitre. L'inclusion de ces nouveaux catalyseurs *pseudo*-achiraux dans l'avidine permet d'utiliser l'architecture chirale de l'avidine comme principal inducteur de chiralité en catalyse.

Plusieurs études présentées ci-après permettent d'éclaircir le comportement de ces espèces en milieu liquide ionique, et le rôle de l'avidine comme inducteur de chiralité. L'influence du milieu réactionnel sur la conformation de la protéine, et donc du catalyseur, est discutée et appuyée par des études de dichroïsme circulaire. La modification structurale du cation biotinylé supportant l'anion est également étudiée, dans le but de pouvoir placer l'anion à des endroits différents dans l'avidine et de pouvoir changer son environnement.

Mathieu Branca a développé les synthèses des composés **1**, **2**, **3** et **4** pour ce travail.

Ma contribution représente la fin de la synthèse du composé **I**, les synthèses des catalyseurs **II** à **V**, toutes les études présentées dans la publication pour les catalyseurs bio-hybrides et leurs interprétations, ainsi que la rédaction de la première version de l'article.

Les informations supplémentaires de cet article sont situées aux pages 182-203 de ce document.

## 4.2 Article 3: Encapsulation of a catalytic imidazolium salt in avidin: towards the development of a biohybrid catalyst active in ionic liquids

Vincent Gauchot,<sup>a</sup> Mathieu Branca<sup>b</sup> and Andreea R. Schmitzer<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128 Succursale Centre-ville, Montréal, Québec, H3C 3J7, Canada

<sup>b</sup> Laboratoire d'Électrochimie Moléculaire, UMR 7591 CNRS, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, 5 rue Jean-Antoine de Baif, 75205 Paris Cedex 13 (France)

*Chemistry, A European Journal*, **2014**, 20, 6, 1530-1538

Reprinted with minor corrections, with permission from *Chemistry, A European Journal*, Vincent Gauchot, Mathieu Branca, and Andreea R. Schmitzer, « Encapsulation of a catalytic imidazolium salt in avidin : towards the development of a biohybrid catalyst active in ionic liquid », **2014**, 20, 6, 1530-1538. Copyright (2014) Wiley-VCH.

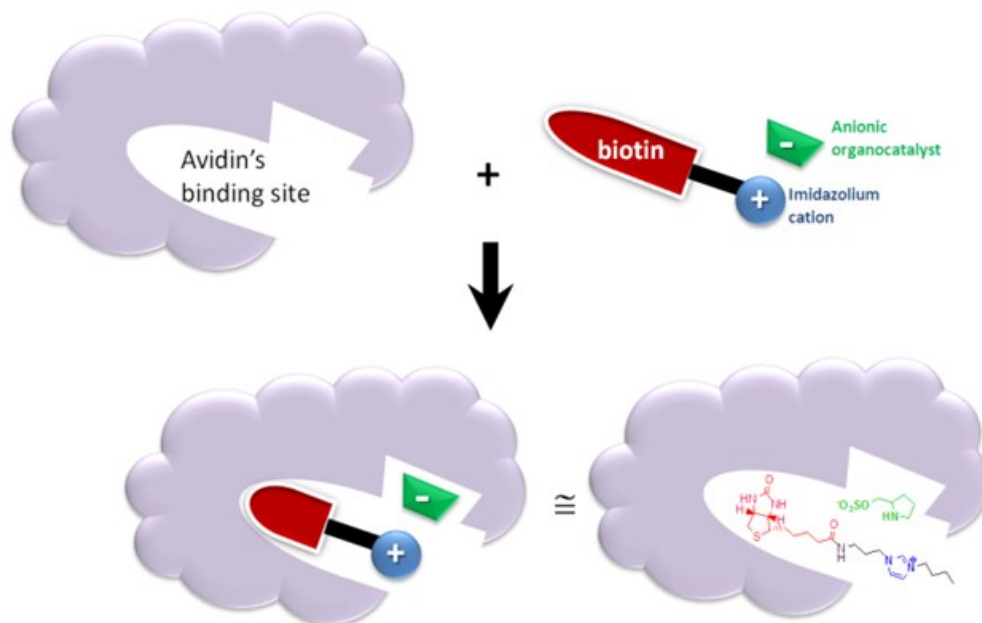
### 4.2.1 Abstract:

Herein, we report the development of biohybrid catalysts that are capable of catalyzing the aldol reaction. The use of biotinylated imidazolium salts in combination with racemic or enantiomerically pure catalytic anions allowed us to study the adaptive and cooperative positioning of the anionic catalyst inside the protein. Supramolecular encapsulation of the biotinylated catalyst into avidin resulted in good selectivity for the aldol reaction performed in ionic liquid/water mixtures.

### 4.2.2 Introduction

Enzymes are evolved entities with supramolecular structures possessing highly catalytic functions, which are usually accompanied by a variety of conformational states. It has been clearly demonstrated that the motion of the enzyme structure confers catalytic efficiency during catalysis.<sup>1-2</sup> Recent progress in host– guest chemistry has allowed chemists to use noncovalent anchoring strategies to build supramolecular complexes with proteins that behave as biohybrid catalysts. These supramolecular complexes show intricate and hierarchical architectures, as well as dynamic features, all of which are required parameters for the development of catalytic systems. Over the last decade, the development of artificial hybrid biocatalysts inspired by natural ones has been of great interest in the field of stereoselective synthesis. Ranging from synthetic macrocyclic compounds to self-assembled nanometer-sized objects, such complexes have been exploited as scaffolds to design supramolecular biohybrid systems.<sup>3-4</sup> The supramolecular anchoring strategy relies on noncovalent interactions between small molecules and the biomolecular scaffold. The crucial point of this strategy is the affinity of the guest molecule for the host biomolecular scaffold. For example, Harada et al. used the high affinity of antibodies for the creation of an artificial hydrogenase.<sup>5</sup> In the same spirit, Keinan *et al.* presented an antibody–metalloporphyrin assembly that catalyzed enantioselective oxidations.<sup>6-7</sup> In an early report, Whitesides et al. described the creation of an artificial metalloenzyme based on the very high affinity of biotin for avidin and streptavidin.<sup>8</sup> Since 2003, the Ward research group has intensively explored the biotin–(strept)avidin technology for the creation of artificial metalloenzymes, ranging

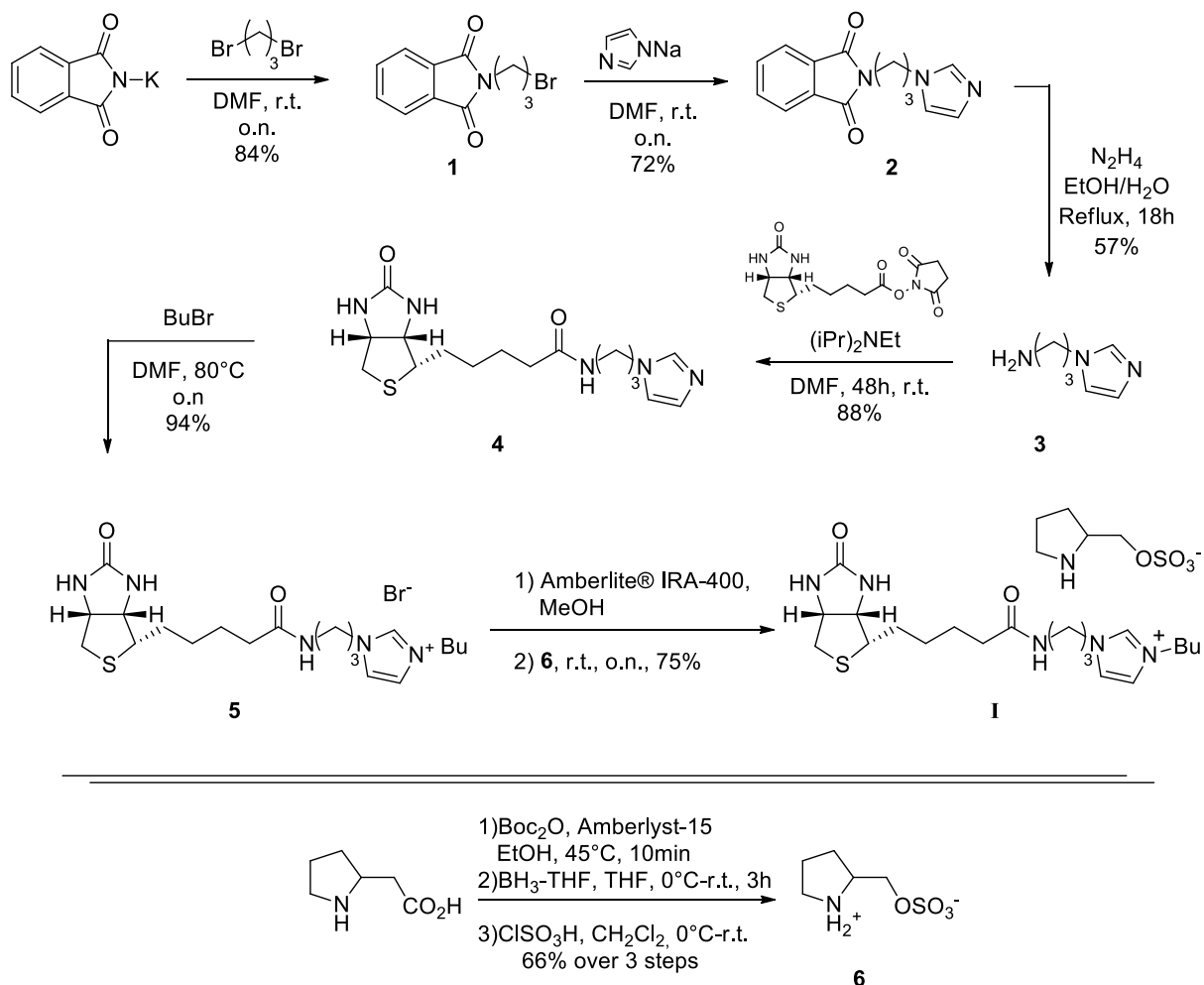
from those mimicking natural enzymes to the design of efficient unnatural metalloenzymes.<sup>9-</sup>  
<sup>14</sup> The presence of the biomolecular scaffold offers an additional advantage for the optimization of the artificial metalloenzyme. Whereas chemical optimization can be achieved by modifying the ligand or by introducing a spacer between the biotin anchor and the metal, the biomolecular scaffold can be genetically modified, even if this requires some time through long methods in order to optimize the environment around the catalyst. Imidazolium salts, best known as ionic liquids (ILs), have gained major interest in the world of organic synthesis as promising “green solvents” as they display many interesting characteristics in terms of supramolecular architecture, non-toxicity, atom economy, and protein stabilization.<sup>15-21</sup> More recently, ILs have been used in asymmetric catalysis and biocatalysis, either as solvents or as actual catalysts. Their potential as solvents for the aldol reaction has been widely reported in the literature, and their superior efficiency as catalysts was recently highlighted.<sup>22-25</sup> Whereas catalysis using the cations of ILs has been widely reported in the literature, use of the anions of organic salts as catalysts is still a developing topic.<sup>26</sup> We previously reported the use of an imidazolium salt bearing a chiral catalytic anion that can be the source of stereoselection in the aldol and Michael reactions.<sup>27-28</sup> Moreover, having demonstrated the beneficial effect of the second coordination sphere provided by the presence of a cyclodextrin unit in a supramolecular complex,<sup>29</sup> we were interested in determining the influence of a host protein on the activity and stereoselectivity of a hybrid system composed of an imidazolium-based biotinylated anchor and a nonchiral organocatalytic anion. The biotinylated imidazolium cation therefore plays an important role, not only in modulating the steric and electronic properties of the organocatalytic anion (first-coordination-sphere interactions), but also in its position inside the protein and therefore in defining the second coordination sphere. The use of biotinylated imidazolium salts in combination with racemic or enantiomerically pure anions allowed us to study the adaptive and cooperative positioning of the anionic catalyst inside the protein (Figure 4.1). We report the preparation of a new type of biohybrid catalysts active in IL/H<sub>2</sub>O mixtures and mechanistic insights into its organocatalysis by using the aldol reaction as an example. To the best of our knowledge, this is the first example of a biohybrid catalyst that is able to function in an ionic liquid medium.



**Figure 4.1** : Supramolecular encapsulation of the biotinylated catalyst in avidin

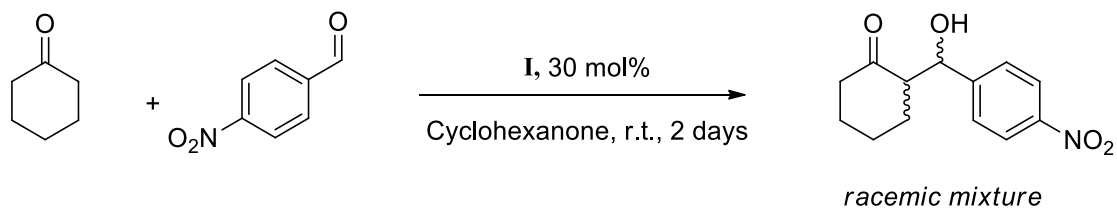
### 4.2.3 Results and discussion

Avidin is a glycosylated protein that is naturally present in egg white.<sup>30-32</sup> Avidin is a tetrameric eight stranded  $\beta$ -barrel protein that binds up to four biotins with high affinity. The interaction between biotin and avidin is extremely tight with  $K_a=1.7 \cdot 10^{15} \text{ M}^{-1}$ . This high value ensures a quasi-irreversible anchoring of biotinylated compounds in the protein pocket as a result of numerous interactions between the biotin and the protein, such as hydrophobic interactions,<sup>33-35</sup> Van der Waals interactions, and hydrogen bonding.<sup>36-37</sup> Avidin is extremely robust and stable at high temperatures,<sup>38</sup> at extreme pH,<sup>39</sup> and at high concentrations of denaturing agents.<sup>40</sup> The robustness of this protein allows its use as a scaffold for a wide range of applications, which also rely on the fact that the valeric acid side chain of biotin can be derivatized with little effect on the remarkable affinity of the biotin–avidin complex.<sup>41</sup> The synthesis of the cationic anchor began with the formation of the imidazole-amine **3** through a typical Gabriel synthesis. The coupling of **3** with the activated (+)-biotin afforded precursor **4**, which was then alkylated with 1-bromobutane under standard conditions to obtain the air-stable biotinylated imidazolium salt **5** (Scheme 4.1).



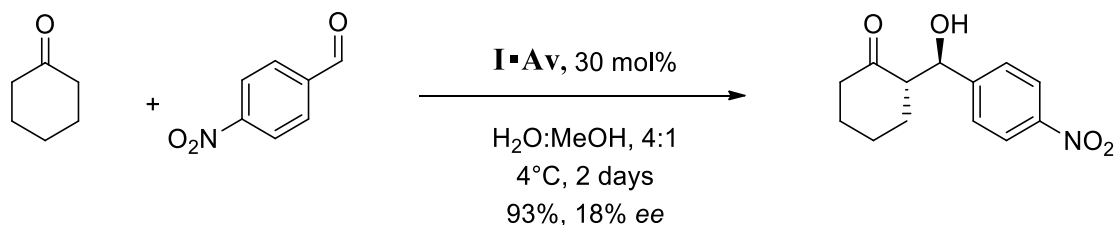
**Scheme 4.1** : Synthesis of the biotinylated catalyst

As we have previously reported, anion metathesis of zwitterion **6** and the bromide salt **5** required the formation of a non-isolable hydroxide intermediate by using an IRA-400 ion exchange resin.<sup>27</sup> The biotinylated imidazolium salt **I** containing the pyrrolidine anion was obtained by simple anion exchange between the hydroxide anion and zwitterion **6**. A control experiment with **I** as the catalyst was performed to assess its activity in the absence of avidin. The desired aldol products were obtained with more than 98% conversion under typical aldol conditions by using cyclohexanone as the solvent.<sup>27</sup> The formation of a racemate in this case also demonstrated the lack of assistance of **I** in the stereoselective control of the aldol reaction (Scheme 4.2).



**Scheme 4.2** : Initial reaction conditions for the aldol reaction

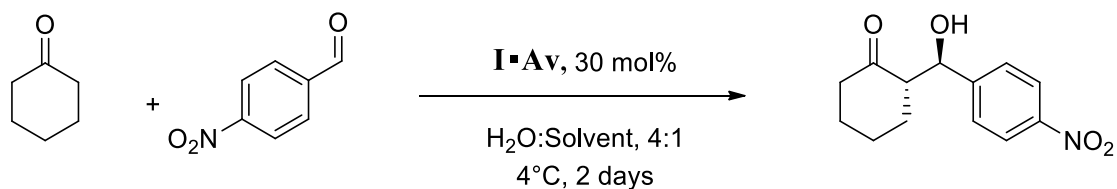
To obtain homogeneous conditions for the aldol reaction, with avidin being extremely hydrosoluble, the reaction medium was partitioned between water and an organic co-solvent, where all the reactants were soluble. No denaturation of avidin was expected under these reaction conditions, as the stability of its complex with (+)-biotin was previously described.<sup>42</sup> The formation of the biohybrid catalyst **I·Av** was performed *in situ* by mixing **I** and avidin for 30 min at room temperature. The chiral induction brought about by the avidin was first studied under un-optimized catalytic conditions (Scheme 4.3).



**Scheme 4.3** : Reaction conditions using **I·Av** as the catalyst

Biohybrid catalyst **I·Av** was active in the aldol reaction performed in H<sub>2</sub>O/ MeOH 4:1 mixture, but only a small enantiomeric excess (*ee*) was observed for the formation of the major *anti* diastereoisomer. For all the catalytic tests, avidin was used in a small excess (1.15 eq for 1 eq. of **I**) to ensure the complete binding of **I**. Based on these preliminary results, we evaluated the solvent effect on the reaction by screening several organic solvents and ILs (Table 4.1).



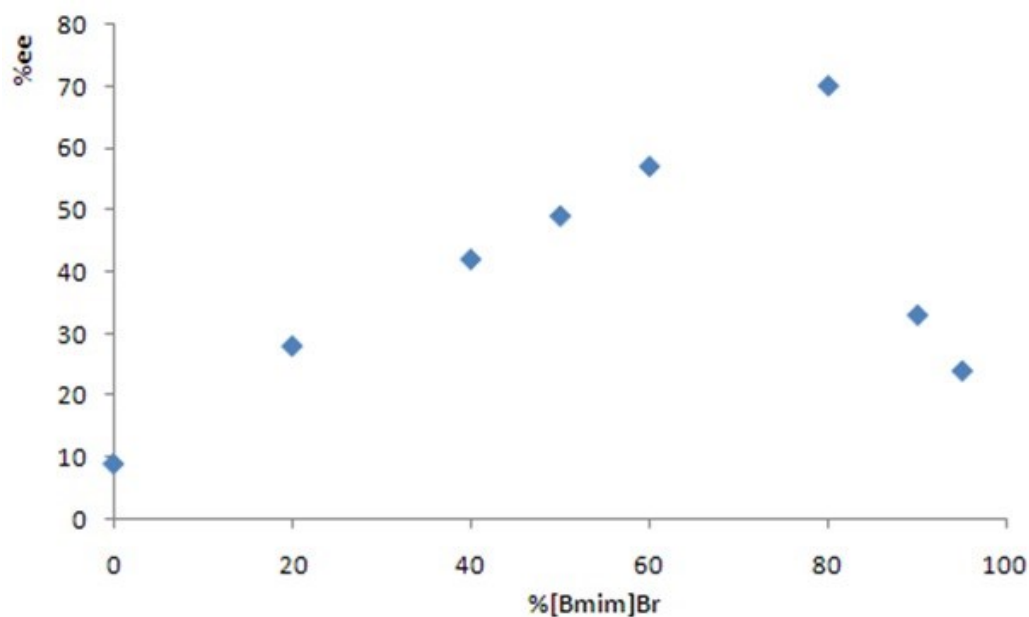
**Table 4.1** : Solvent screening

Entry	Solvent (ratio: 4 : 1)	Conversion <sup>a</sup>	<i>dr</i> (syn/anti) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (syn/anti) <sup>a</sup>
1	H <sub>2</sub> O: MeOH	93%	33/66	rac./18%
2	H <sub>2</sub> O:DMF	94%	41/59	rac./12%
3	H <sub>2</sub> O: DMSO	95%	41/59	rac./11%
4	H <sub>2</sub> O:AcOEt	31%	34/66	4%/16%
5	H <sub>2</sub> O:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	21%	49/61	10%/14%
6	H <sub>2</sub> O:Cyclohexanone	>99%	39/61	rac./20%
7	H <sub>2</sub> O:[Bmim]Br	47%	41/59	6%/28%
8	H <sub>2</sub> O:[Bmim]BF <sub>4</sub>	43%	37/63	14%/26%
9	H <sub>2</sub> O:[Bmim]NTf <sub>2</sub>	46%	41/59	18%/4%

<sup>a</sup> Determined by chiral HPLC

When using water-miscible solvents such as MeOH, DMF, and DMSO (entries 1–3), excellent conversions were obtained after 48 h of reaction. Hydrophobic solvents like AcOEt or CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (entries 4–5), predictably, led to lower conversion rates, the reactants not being soluble in water. Carrying out the reaction in H<sub>2</sub>O/cyclohexanone led to complete conversion after two days. Despite an excellent conversion rate, the enantioselectivity was still low (under 20 %). These results were improved only when we used ionic liquids as co-solvents. Different 1-butyl-3-methylimidazolium salts ([Bmim]X) were tested, and whereas the conversion rates were lower than those obtained in common organic solvents, the selectivity was improved to up to 28% *ee* when using the water-soluble [Bmim]Br. Replacement of [Bmim]Br with the highly hydrophobic [Bmim]NTf<sub>2</sub> resulted in a decrease of enantioselectivity (down to 4 %, entry 9). The decrease in conversion when using ILs could be associated with the high viscosity of the IL at low temperatures. Moreover, the nature of the solvent did not seem to affect the diastereomeric ratio (*dr*). In an attempt to understand

the effect of ILs on the selectivity of the aldol reaction, the ratio of [Bmim]Br in the reaction reaction medium was incrementally varied.

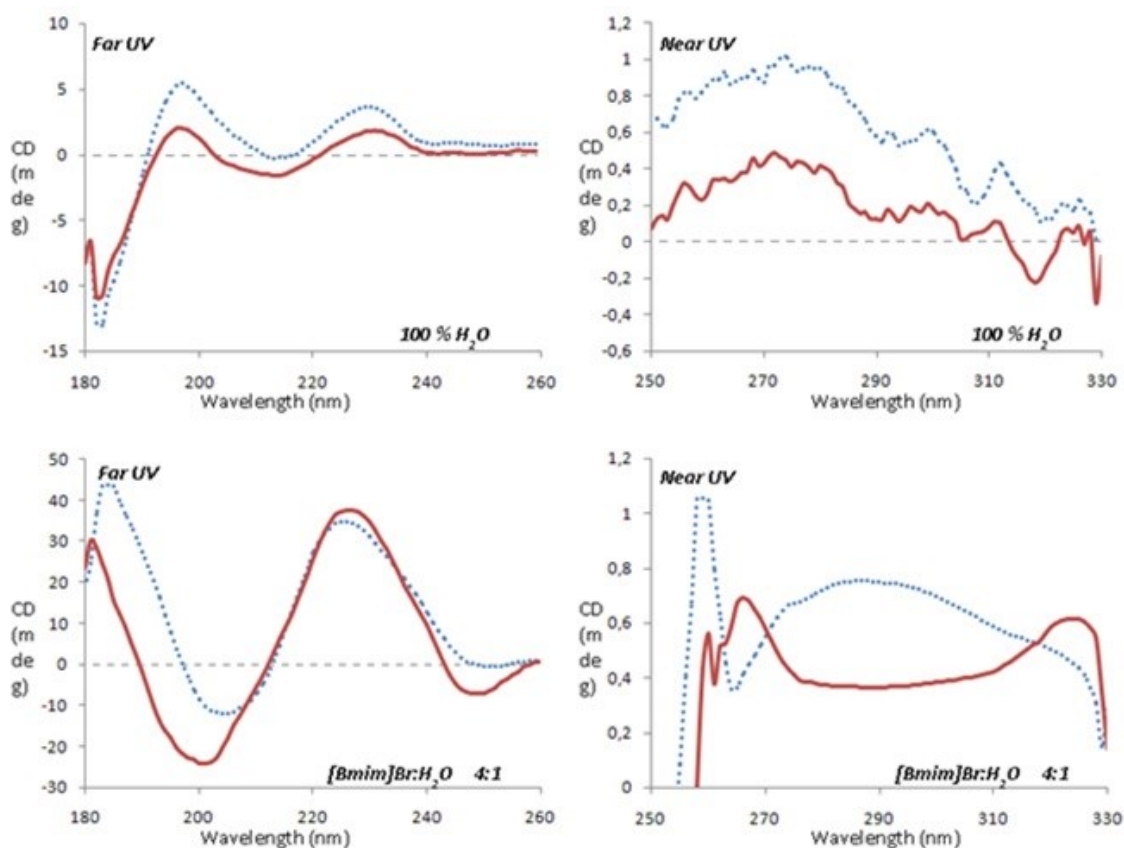


**Figure 4.2** : Influence of the ionic liquid content on the enantioselectivity of the reaction

As shown in Figure 4.2, a linear increase in the selectivity for the major anti diastereomer was obtained by increasing the amount of IL up to 80% v/v, where 70% *ee* was obtained. Such linearity in the variation of enantioselectivity suggests a possible rearrangement of the avidin structure with increasing IL content. When going beyond a 4:1 IL/water ratio, the enantioselectivity decreased to 24% *ee* and no reaction occurred when the reaction was performed in pure [Bmim]Br, proving that a small amount of water was necessary to completely solubilize the avidin and maybe to preserve its 3D structure. To the best of our knowledge, there are no reports in the literature on the conformational changes of avidin in an ionic liquid medium.

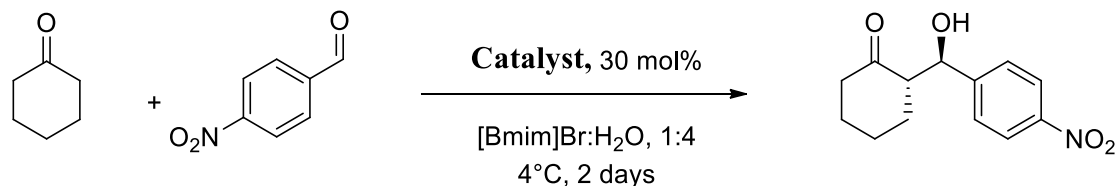
We performed circular dichroism (CD) measurements of avidin (Figure 4.3, solid line) and **I·Av** (dotted line) in water and a 4:1 IL/water mixture. As shown in Figure 4.3, substantial changes in avidin's conformation can be observed in the IL/water mixture. A significant difference between the spectra of both free avidin and **I·Av** revealed a conformation change in both secondary (far-UV spectrum) and tertiary (near-UV spectrum) structures of avidin. The distinctive peaks for  $\beta$ -sheets at 197 nm (positive band) and 213 nm

(negative band) in water were replaced by a negative absorption band of high magnitude at 203 nm in the IL/water mixture, suggesting a possible appearance of random coil structures.



**Figure 4.3** : Circular dichroism spectra of avidin (solid line) and **I**·Av (dotted line) at  $0.5 \text{ mg.mL}^{-1}$

The broad peak around 260 nm in the near-UV IL/water spectrum suggests that the intra-monomeric disulfide bond between Cys4 and Cys83 was reduced.<sup>43</sup> Further studies must be performed to elucidate if specific structure changes occur and to see if a new inter-monomeric disulfide bond is formed under these conditions. These conformational changes in avidin structure may be responsible for the variation in the selectivity of the reaction arising from the differing IL content. As previously reported, the binding of **I** has no significant effect on the structure of avidin in water.<sup>44-45</sup> However, in the IL/water mixture, an important structural change of avidin was observed in both the far- and near-UV spectra when **I** was encapsulated in the protein. At this point, several control experiments were carried out to assess the role of each component of the reaction (Table 4.2)

**Table 4.2** : Control experiments

Entry	Catalyst	Conversion <sup>a</sup>
1	<b>5•Av</b>	No conversion
2	<b>I</b> , no avidin	No conversion
3	<b>6</b> , with avidin	No conversion
4	Avidin only	No conversion

<sup>a</sup> Determined by chiral HPLC

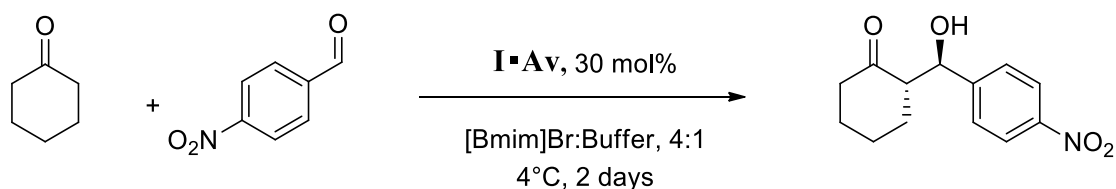
A first reaction was performed under the optimized conditions with **5•Av** instead of **C**, but no traces of the aldol products were observed, highlighting the importance of the counter anion in the catalytic process (Table 4.2, entry 1). One important observation is that since avidin possess a high a molecular weight (approximately 88 kDa), working in high substrate dilution conditions was necessary.

Since avidin exhibits a molecular weight of approximately 88 kDa, substrate in high dilution was necessary to ensure full solubilization of the protein and to lower the viscosity of the reaction media; these high-dilution conditions were approximately 100 times lower than those usually described in the literature. A control experiment was carried out under these dilution conditions with **I** as the catalyst in the absence of avidin. No traces of the aldol products were observed after 48 h, confirming that the catalytic activity of **I** outside avidin was negligible in these high dilution conditions (Table 4.2, entry 2). This experiment also allowed us to discount any possible interference by competitive reactions catalyzed by the free catalyst **I** outside the avidin active site. These results were also proof of the supramolecular complexation between **I** and avidin, showing that encapsulation of **I** inside avidin is required for the reaction to occur in an acceptable time frame. A catalytic run was also performed with zwitterion **6** with avidin to test the possible complexation of the anionic catalyst with any charged residue inside avidin (Table 4.2, entry 3). No conversion was

observed, implying that the absence of the imidazolium moiety prevents the correct encapsulation of the catalytic anion inside the avidin pocket. A final control experiment was performed to determine whether avidin in the 4:1 IL/water mixture exhibits any catalytic activity (Table 4.2, entry 4). Once more, no conversion was observed after 48 h.

As pH has a major impact on the behavior of proteins in aqueous media, several tests were performed using different buffers in the IL mixtures, allowing the pH to be varied from 1 to 12 (Table 4.3).

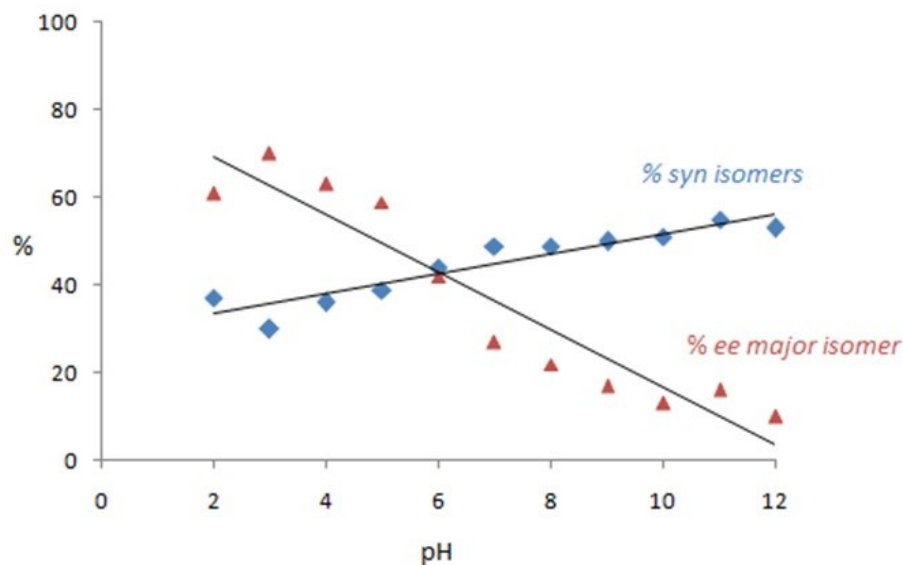
**Table 4.3** : Influence of pH



Entry	pH <sup>a</sup>	Conversion % <sup>b</sup>	ee (anti) % <sup>b</sup>
1	1	-	-
2	2	43	61
3	3	43	70
4	4	38	63
5	5	41	59
6	6	69	42
7	7	81	27
8	8	89	22
9	9	86	17
10	10	89	13
11	11	69	16
12	12	85	10
13	NaOH 0.1 M	>99%	rac.

<sup>a</sup> pH 1-2 and 12 chloride buffer, pH 3-6 acetate buffer, pH 7-8 phosphate buffer, pH 9 TRIS buffer and pH 10-11 carbonate buffer. <sup>b</sup> Determined by chiral HPLC. <sup>c</sup> No avidin was added.

Carrying out the reaction at pH 1 led to the degradation of I·Av, preventing catalysis (Table 4.3, entry 1). Unsurprisingly, pH has a dramatic influence on the catalyst efficiency: at higher pH, the conversion was higher, but the selectivity was lower. By plotting the diastereomeric ratio *versus* pH, it can be seen that the overall trend shows that a more basic medium leads to a decrease of enantioselectivity, but also an increase of the proportion of the *syn* isomers (Figure 4.4).

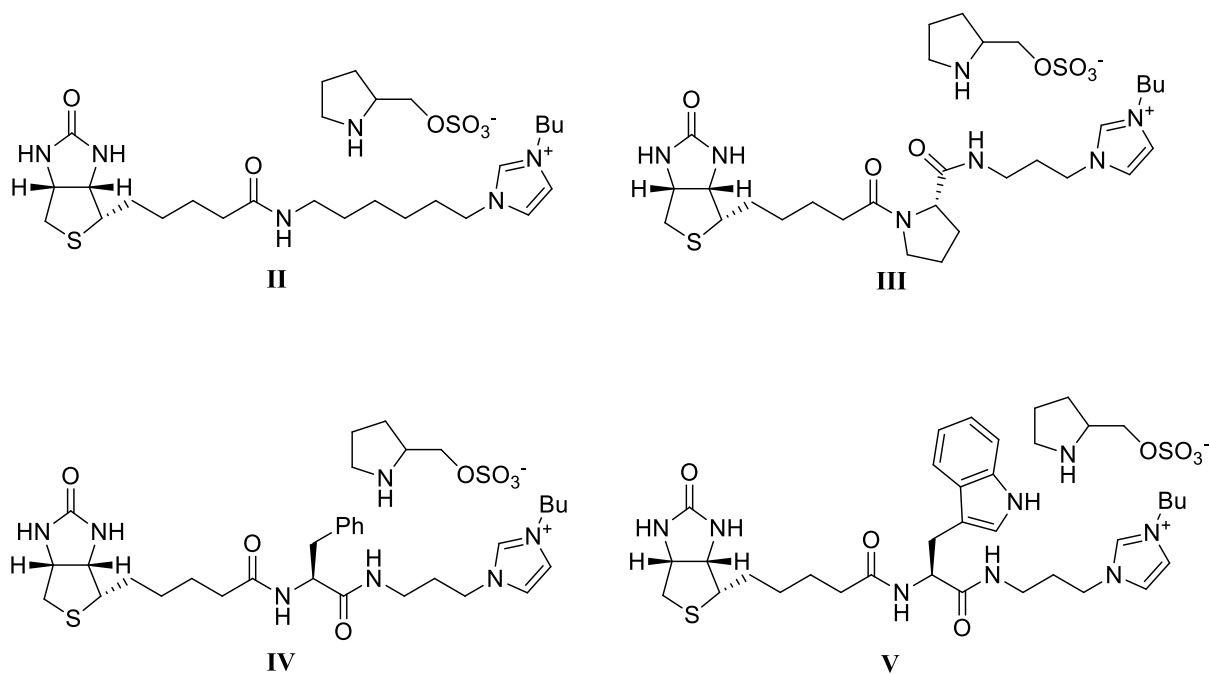


**Figure 4.4** : Trends in selectivity with varying pH

The hypothesis that a possible base-catalyzed reaction was being carried out outside avidin was confirmed when a blank experiment without avidin was performed using NaOH as the sole catalyst (Table 4.3, entry 13). A racemic mixture of aldol products was obtained, indicating that the drop in selectivity observed at high pH results from competition between the reaction occurring inside the protein and the base-catalyzed reaction happening outside avidin, where there is no stereocontrol. As low pH is required to favor the “inside” reaction, we chose to keep the pH of the reaction medium at 3. The problem of low conversion at this pH was solved by increasing the substrate concentration to  $2 \times 10^{-2}$  M, leading to 94% conversion after 48 h with the same enantioselectivity.

To gain a better understanding of the interactions between the biotinylated imidazolium salt and avidin, as well as the mobility of the catalytic anion in avidin's binding site, we designed and synthesized different cationic threads. The structure of the biotinylated thread was modified in an attempt to position the anionic catalyst at different locations inside the avidin binding site and to see how these locations could influence the reactivity of the catalyst. Ward *et al.* recently reported that the insertion of an amino acid in biotinylated catalysts increased the performance of their metalloenzymes.<sup>46</sup>

Based on these observations, we speculated that: 1) aromatic amino acids with hydrophobic side chains (L-Phe and L-Trp) would display  $\pi$ - $\pi$  interactions with hydrophobic residues inside the cavity; 2) adding a longer alkyl chain between the biotin moiety and the imidazolium cation would allow more flexibility inside the protein; 3) L-proline, with its high conformational rigidity, would restrain the liberty of movement of the anionic catalyst (Figure 4.5).



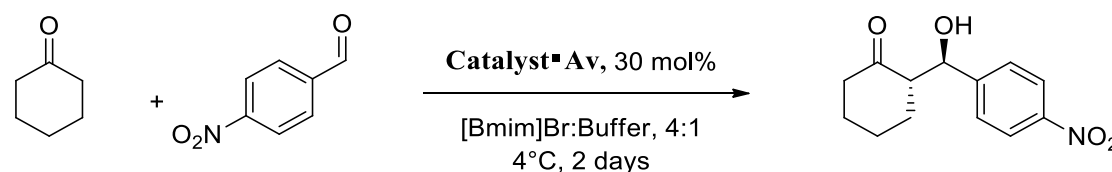
**Figure 4.5** : Variation of the structure of the cationic scaffold

All tert-butoxycarbonyl (Boc)-protected amino acids were first coupled with **3** through a simple and efficient procedure using N-

hydroxysuccinimide/dicyclohexylcarbodiimide (NHS/DCC) in acetonitrile. A deprotection step, followed by the coupling with (+)-biotin N-hydroxysuccinimide ester, led to the imidazole precursors. Alkylation using 1-bromobutane, followed by anion metathesis with **6** afforded **II**, **III**, **IV**, and **V** as air-stable compounds. Full experimental details for the synthesis of these compounds can be found in the Supporting Information. The formation of the biohybrid catalysts was performed *in situ* and catalysis was carried out by using the optimized conditions already described.

The catalytic activity of **II–V** and their contributions to the stereocontrol of the reaction were also assessed with avidin-free catalytic runs. All results are shown in Table 4.4.

**Table 4.4** : Effect of the cationic scaffold<sup>a</sup>



Entry	Catalyst	Conversion % <sup>b</sup>	<i>ee</i> (anti) % <sup>b</sup>
1	<b>I • Av</b>	94	70
	<b>I</b>	< 1	< 3
2	<b>II • Av</b>	88	68
	<b>II</b>	< 2	< 4
3	<b>III • Av</b>	89	66
	<b>III</b>	< 1	< 4
4	<b>IV • Av</b>	86	66
	<b>IV</b>	< 1	< 4
5	<b>V • Av</b>	88	66
	<b>V</b>	< 2	< 5

<sup>a</sup> Substrate concentration:  $2 \cdot 10^{-2}$  M in each case. <sup>b</sup> Determined by chiral HPLC.

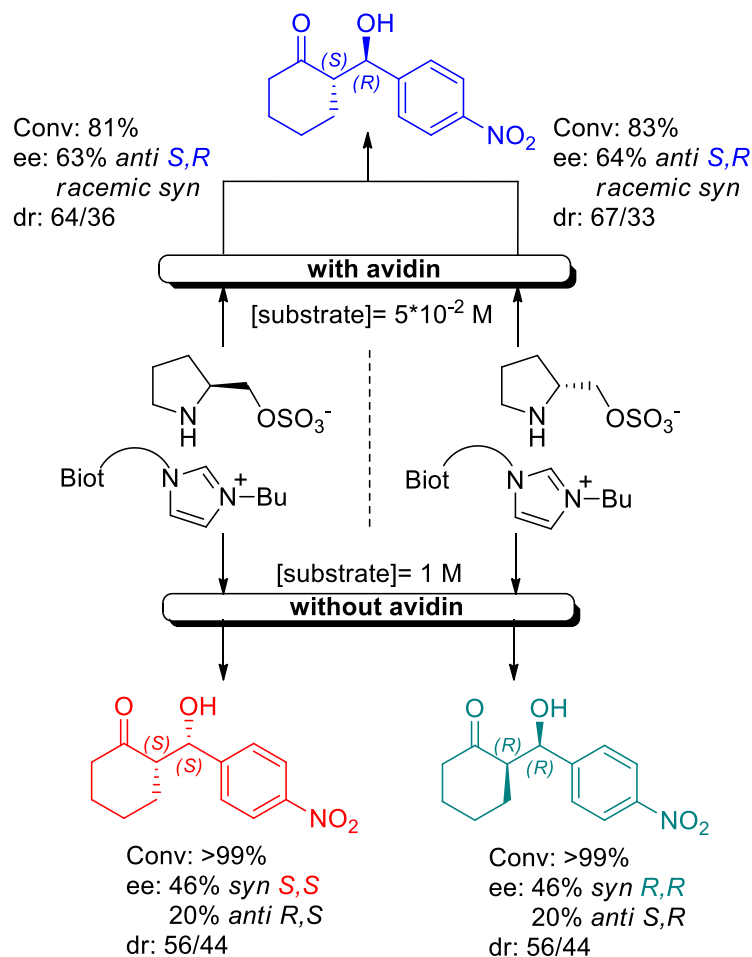
As previously observed, no chiral induction and extremely low conversions were obtained for all the tested catalysts in the absence of avidin, owing to the extremely diluted conditions. The lack of reactivity underlines the crucial role of avidin in terms of acceleration



of the reaction rate. The variation of the structure of the cationic thread did not affect the complexation efficiency between the catalyst and avidin. However, no significant variation in the obtained *ee* was observed when using different cationic threads. These results suggest that the pyrrolidine moiety has enough freedom of motion inside the avidin cavity to adopt the same optimized position in all these cases, independent of the structure of its cationic counterpart. These results also show that the cation does not actively participate in the catalytic process and that the movement of the anion inside the avidin pocket is the crucial parameter of this biohybrid species.

To support these observations, the two enantiomers of the 2-pyrrolidinemethanesulfonate salt of **6** were prepared. Each catalyst bearing a chiral counter anion was tested under the optimized conditions and this, surprisingly, led to similar results compared with their racemic counterpart in the presence of avidin (Scheme 4.4). Interestingly, the D-pyrrolidine derivative did not give the expected enantiomer of the usual *anti* aldol product, but gave the (S,R) enantiomer with an enantiomeric excess similar to the results obtained by using **I**.

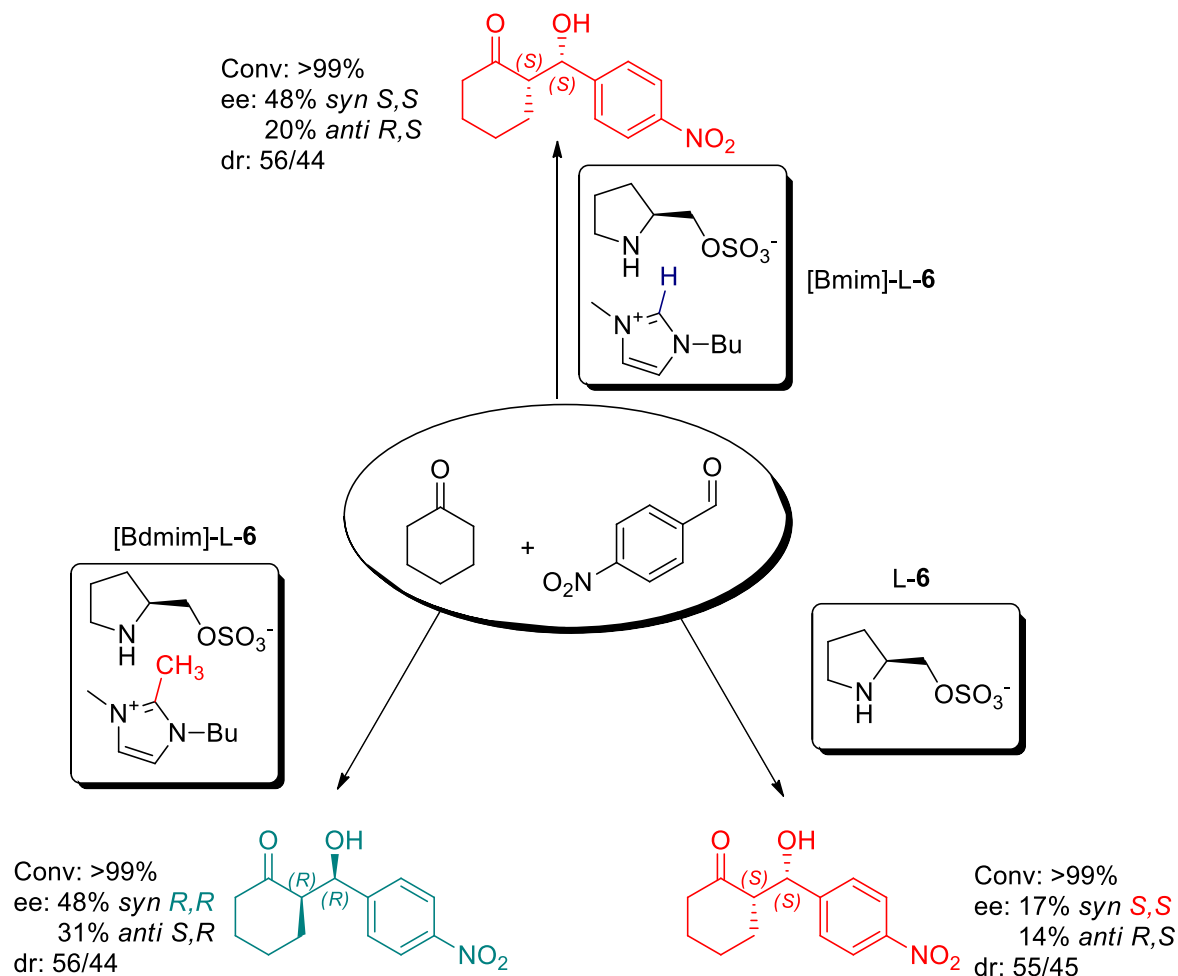
To get a better insight into the impact of the intrinsic chirality of the anion, the chiral diastereomeric analogues of **I** bearing L- and D- pyrrolidinemethanesulfonate anions were tested in the absence of avidin, using an appropriate substrate concentration (1 M). The results are compiled in Scheme 4.4, where only the major diastereomers of the obtained aldol products are shown. This time, the *syn* diastereomers were the major product and the selectivities depended on the absolute configuration of the anion, each anion favoring one enantiomer of the *anti* products. However, the enantiomeric excess for the *anti* diastereomer was very low (20% *ee* max.).



**Scheme 4.4** : Influence of the chirality of the anion

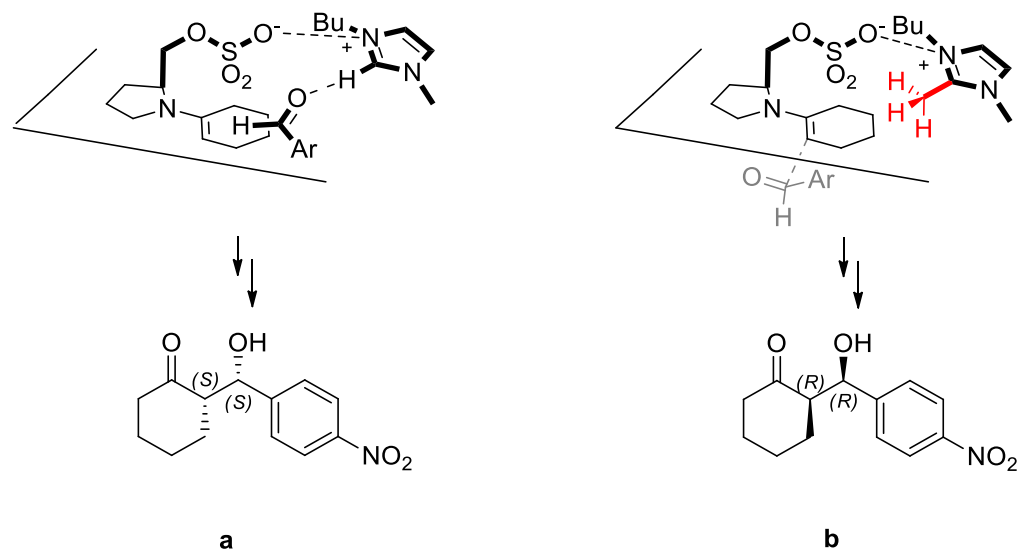
Two conclusions can be drawn from these results: 1) There is no obvious match–mismatch evidence in the case where the racemic anion of **I** is embedded in the protein, as both versions of the catalyst led to similar results in the formation of the (*S,R*) *anti* enantiomer (Scheme 4.6) ; 2) Even if the intrinsic chirality of the anion is directly responsible for the stereoselective outcome of the reaction in the absence of avidin, it seems that the chirality inside the protein governs and improves the selectivity of the biohybrid catalyst.

As both enantiomers of the *syn* aldol product can be obtained in similar excess regardless of whether the L- or D-pyrrolidinemethanesulfonate anion is used, it is clear that the sulfonate moiety dictates the approach of the aldehyde towards the enamine. Complementary experiments were carried out with three non-biotinylated catalysts to understand the role of both the anion and cation in the model aldol reaction (Scheme 4.5).



**Scheme 4.5** : The role of the imidazolium cation in the catalytic process

The presence of the imidazolium cation close to the sulfonate group favors the approach of the aldehyde through hydrogen bonding of H-2 of the imidazolium to the oxygen atom of the aldehyde. Steric hindrance results in attack of the enamine on its *Si* face, leading to the formation of the *syn* diastereomer. When the imidazolium H-2 is replaced by a methyl group, the possibility of hydrogen bonding is removed and the selectivity of the reaction is ruled purely by steric restrictions; thus, the aldehyde is forced to approach the “opposite face” of the enamine (Scheme 4.6).



**Scheme 4.6** : Possible transition states for a) [Bmim]-L-6, and b) [Bdmim]-L-6

The importance of the imidazolium cation was also highlighted by the results obtained when using the deprotonated version of **6** as the catalyst; in this instance, the selectivity decreased considerably. While it is still unclear why the *anti* diastereomer was preferentially formed when the reaction was carried out inside avidin, one could suppose that the sulfonate group can interact with a cationic residue inside avidin, resulting in a conformational change to the sulfonated arm. In this case, the steric hindrance initially caused by the catalyst would play less of a role in the discrimination of the enamine faces and the observed stereocontrol would be induced by the chiral pocket of the avidin (for more details see the Supporting Information). This hypothesis is also consistent with the results obtained with the different enantiomerically pure anions, which gave the same aldol product. These results also suggest the possibility of free motion of the anions inside avidin and show that racemic anions can be used to form the diastereomeric catalyst.

Combined with its ionic liquid compatibility, this could be an asset for the preparation of substrate-tolerant biocatalysts without additional optimization of the avidin active site. Moreover, current work in our group aims at the synthesis of new chiral pyrrolidine-based anions to achieve a fine tuning and a better understanding of this system in catalysis, especially for the development of new reactions.

## 4.2.4 Conclusion

We presented the assembly of a biohybrid catalyst obtained by the complexation of biotinylated imidazolium salts with racemic or enantiomerically pure catalytic anions and their activity in the aldol reaction performed in IL/water mixtures. Circular dichroism studies revealed the influence of the ionic liquid on the conformation of avidin and the biohybrid catalyst. The high degree of freedom of the anionic catalyst inside the protein was demonstrated for different biohybrid catalysts and the influence of the second-sphere coordination brought about by the protein around the catalyst was discussed. Further studies on the substrate tolerance of our system are currently under investigation in our group and efforts are currently being made towards the synthesis of new catalytic anions with different structures to improve the catalyst's activity. Also, the design of novel anionic compounds that can act as ligands for transition metals could lead to the assembly of new biohybrid catalytic systems.

## 4.2.5 Experimental section

### 4.2.5.1 General

All organic compounds were purchased in their highest available purity and used without further purification. Egg-white Avidin was purchased from Lee Biosolutions. NMR experiments were recorded on an Avance 300 Bruker, at 300 and 75.5 MHz, and an Avance 400 Bruker, at 400 and 100 MHz, with non-spinning samples. All NMR experiments were obtained by the use of the commercially available sequence on Bruker spectrometers. Coupling constants are given in Hertz (Hz) and chemical shifts are given in ppm (d) and measured relative to residual solvent. Mass spectral data were obtained by the Université de Montréal Mass Spectrometry Facility and were recorded on a Mass spectrometer TSQ Quantum Ultra (Thermo Scientific) with accurate mass options instrument.

### 4.2.5.2 Typical procedure for the aldol reaction

Stock solutions of starting materials and catalysts were prepared: S<sub>1</sub> refers to a 0.2 M solution of p-nitrobenzaldehyde in [Bmim]Br; S<sub>2</sub> refers to a 2 M solution of cyclohexanone in [Bmim]Br; S<sub>3</sub> refers to a 0.03 M solution of catalyst in water/buffer. In a vial, avidin (12

mg, 13.8 U/mg, binds 0.678  $\mu\text{mol}$  of biotinylated catalyst, 1.13 eq compared with catalyst) was suspended in [Bmim]Br (60  $\mu\text{L}$ ). S<sub>2</sub> (10  $\mu\text{L}$ , 20  $\mu\text{mol}$ , 10 eq.) and S<sub>3</sub> (20  $\mu\text{L}$ , 0.6  $\mu\text{mol}$ , 30 mol%) were added. Once the avidin was completely dissolved, the reaction mixture was stirred for 30 min at 23°C to allow the formation of the catalytic species. S<sub>1</sub> (10  $\mu\text{L}$ , 2  $\mu\text{mol}$ , 1 eq.) was added and the reaction mixture was stirred for 48 h at 48°C. Diethyl ether (0.5 mL) was then added and the vial was vortexed for 1 min. The ether phase was analyzed by chiral HPLC (ChiralPak AD-H column, hexanes/ isopropyl alcohol (IPA) 95/5, 0.5 mL.min<sup>-1</sup>,  $\lambda$ =254 nm) t<sub>R</sub> (*anti* isomer)=40.84 (minor), 56.69 (major), t<sub>R</sub> (*syn* isomer)=27.96 (minor), 37.35 min (major).

#### 4.2.6 Acknowledgements

This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies, the Centre of Green Chemistry and Catalysis, the Canada Foundation for Innovation and the Université de Montréal. We thank colleagues for careful discussions of this manuscript.

#### 4.2.7 References

- 1 Eisenmesser, E. Z.; Millet, O.; Labeikovsky, W.; Korzhnev, D. M.; Wolf-Watz, M.; Bosco, D. A.; Skalicky, J. J.; Kay, L. E.; Kern, D., *Nature* **2005**, *438* (7064), 117.
- 2 Kurkcuoglu, Z.; Bakan, A.; Kocaman, D.; Bahar, I.; Doruker, P., *PLoS Comput. Biol.* **2012**, *8* (9), e1002705.
- 3 Deuss, P. J.; den Heeten, R.; Laan, W.; Kamer, P. C., *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17* (17), 4680.
- 4 Dong, Z.; Luo, Q.; Liu, J., *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (23), 7890.
- 5 Yamaguchi, H.; Hirano, T.; Kiminami, H.; Taura, D.; Harada, A., *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4* (19), 3571.
- 6 Shabat, D.; Itzhaky, H.; Reymond, J. L.; Keinan, E., *Nature* **1995**, *374* (6518), 143.
- 7 Nimri, S.; Keinan, E., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (39), 8978.
- 8 Wilson, M. E.; Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100* (1), 306.
- 9 Collot, J.; Gradinaru, J.; Humbert, N.; Skander, M.; Zocchi, A.; Ward, T. R., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (30), 9030.
- 10 Letondor, C.; Pordea, A.; Humbert, N.; Ivanova, A.; Mazurek, S.; Novic, M.; Ward, T. R., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (25), 8320.
- 11 Pierron, J.; Malan, C.; Creus, M.; Gradinaru, J.; Hafner, I.; Ivanova, A.; Sardo, A.; Ward, T. R., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47* (4), 701.
- 12 Ward, T. R., *Chem. - Eur. J.* **2005**, *11* (13), 3798.
- 13 Ward, T. R., *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44* (1), 47.

- 14 Hyster, T. K.; Knorr, L.; Ward, T. R.; Rovis, T., *Science* **2012**, 338 (6106), 500.
- 15 Noujeim, N.; Leclercq, L.; R. Schmitzer, A., *Curr. Org. Chem.* **2010**, 14 (14), 1500.
- 16 Welton, T., *Chem. Rev.* **1999**, 99 (8), 2071.
- 17 Parvulescu, V. I.; Hardacre, C., *Chem. Rev.* **2007**, 107 (6), 2615.
- 18 Deetlefs, M.; Seddon, K. R., *Green Chem.* **2010**, 12 (1), 17.
- 19 Fujita, K.; Forsyth, M.; MacFarlane, D. R.; Reid, R. W.; Elliott, G. D., *Biotechnol. Bioeng.* **2006**, 94 (6), 1209.
- 20 Constatinescu, D.; Herrmann, C.; Weingartner, H., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, 12 (8), 1756.
- 21 Rodrigues, J. V.; Prosinecki, V.; Marrucho, I.; Rebelo, L. P.; Gomes, C. M., *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13 (30), 13614.
- 22 Bica, K.; Gaertner, P., *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2008 (19), 3235.
- 23 van Rantwijk, F.; Sheldon, R. A., *Chem. Rev.* **2007**, 107 (6), 2757.
- 24 Kong, Y.; Tan, R.; Zhao, L.; Yin, D., *Green Chem.* **2013**, 15 (9), 2422.
- 25 Qian, Y.; Zheng, X.; Wang, Y., *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2010 (19), 3672.
- 26 Ávila, E. P.; Amarante, G. W., *ChemCatChem* **2012**, 4 (11), 1713.
- 27 Gauchot, V.; Schmitzer, A. R., *J. Org. Chem.* **2012**, 77 (11), 4917.
- 28 Gauchot, V.; Gravel, J.; Schmitzer, A. R., *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 2012 (31), 6280.
- 29 Leclercq, L. c.; Schmitzer, A. R., *Organometallics* **2010**, 29 (15), 3442.
- 30 Melamed, M. D.; Green, N. M., *Biochem. J.* **1963**, 89, 591.
- 31 Green, N. M., *Adv. Protein. Chem.* **1975**, 29, 85.
- 32 Bayer, E. A.; Wilchek, M., *Methods Enzymol.* **1990**, 184, 49.
- 33 Livnah, O.; Bayer, E. A.; Wilchek, M.; Sussman, J. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90 (11), 5076.
- 34 Feltus, A.; Ramanathan, S.; Daunert, S., *Anal. Biochem.* **1997**, 254 (1), 62.
- 35 Rosano, C.; Arosio, P.; Bolognesi, M., *Biomol. Eng.* **1999**, 16 (1-4), 5.
- 36 Laitinen, O. H.; Nordlund, H. R.; Hytonen, V. P.; Uotila, S. T.; Marttila, A. T.; Savolainen, J.; Airene, K. J.; Livnah, O.; Bayer, E. A.; Wilchek, M.; Kulomaa, M. S., *J. Biol. Chem.* **2003**, 278 (6), 4010.
- 37 Hyre, D. E.; Le Trong, I.; Merritt, E. A.; Eccleston, J. F.; Green, N. M.; Stenkamp, R. E.; Stayton, P. S., *Protein. Sci.* **2006**, 15 (3), 459.
- 38 Green, N. M., *Methods Enzymol.* **1990**, 184, 51.
- 39 Nordlund, H. R.; Hytönen, V. P.; Laitinen, O. H.; Uotila, S. T. H.; Niskanen, E. A.; Savolainen, J.; Porkka, E.; Kulomaa, M. S., *FEBS Letters* **2003**, 555 (3), 449.
- 40 Sano, T.; Pandori, M. W.; Chen, X.; Smith, C. L.; Cantor, C. R., *J. Biol. Chem.* **1995**, 270 (47), 28204.
- 41 Bayer, E. A.; Skutelsky, E.; Wilchek, M., *Methods Enzymol.* **1979**, 62, 308.
- 42 González, M. n.; Argaraña, C. E.; Fidelio, G. D., *Biomol. Eng.* **1999**, 16 (1-4), 67.
- 43 Pugliese, L.; Coda, A.; Malcovati, M.; Bolognesi, M., *J. Mol. Biol.* **1993**, 231 (3), 698.
- 44 Green, N. M.; Melamed, M. D., *Biochem. J.* **1966**, 100, 614.
- 45 Zsila, F., *Anal. Biochem.* **2009**, 391 (2), 154.
- 46 Rusbandi, U. E.; Lo, C.; Skander, M.; Ivanova, A.; Creus, M.; Humbert, N.; Ward, T. R., *Adv. Synth. & Catal.* **2007**, 349 (11-12), 1923.

**Chapitre 5 : Influence de la structure et la chiralité de l'anion sur l'activité du catalyseur bio-hybride obtenu avec l'avidine**



## 5.1 Préface

Ce dernier chapitre s'attarde plus précisément au rôle de l'anion dans la cavité de l'avidine et son influence en catalyse. Plusieurs anions dérivés de la proline, possédant chacun des caractéristiques structurales différents, ont été préparés et utilisés dans une réaction d'aldol. Diverses modifications de la structure pour apporter de la flexibilité, de la rigidité, ou encore de la chiralité à l'anion ont permis d'obtenir des informations supplémentaires pour avoir une meilleure compréhension du rôle de l'anion dans le système supramoléculaire.

La grande liberté de mouvement apportée par les interactions non covalentes entre le cation et l'anion du catalyseur bio-hybride nous a également incités à étudier la tolérance du catalyseur bio-hybride à divers substrats.

J'ai réalisé l'ensemble des études présentées dans ce chapitre, ainsi que la rédaction de la première version de l'article.

Les expériences de RMN à haute température ont été réalisées par Sylvie Bilodeau, du service RMN de l'Université de Montréal.

Les informations supplémentaires de cet article sont situées aux pages 204-229 de ce document.

## **5.2 Article 4: Catalytic anions embedded into avidin: importance of their chirality and the chiral environment on the stereocontrol of the aldol reaction**

Vincent Gauchot and Andreea R. Schmitzer

Department of Chemistry, Université de Montréal, C.P. 6128 Succursale Centre-ville, Montréal, Québec, H3C 3J7, Canada

*Journal of Organic Chemistry*, **2014**, 79, 2694-2701

Reprinted with minor corrections, with permission from *Journal of Organic Chemistry*, Vincent Gauchot and Andreea R. Schmitzer, « Catalytic anions embedded into avidin: importance of their chirality and the chiral environment on the stereocontrol of the aldol reaction », **2014**, 79, 2694-2701. Copyright (2014) American Chemical Society

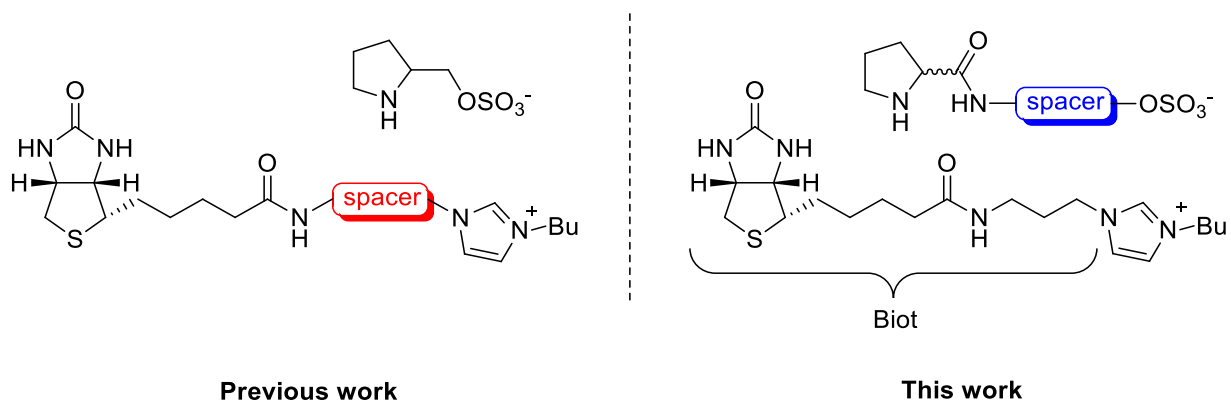
### 5.2.1 Abstract

Several catalytic anions bearing a *pseudo* dipeptide scaffold, in combination with a biotinylated imidazolium cation, were prepared. The assembly of these salts with avidin resulted in the formation of stable bio-hybrid catalysts, active in ionic liquids: aqueous media for the aldol reaction. By using natural and non-natural amino-alcohols as “side-chains” for the proline derivative anion, we studied the cooperativity between the anion and its position in avidin. Taking advantage of the large freedom of movement of the anion inside avidin, we also investigated the substrate scope of this type of bio-hybrid catalyst.

### 5.2.2 Introduction

Over the last fifty years, enzymatic catalysis has proven itself a marvelous tool for synthetic chemists. Since the first discovery of enzymes almost two centuries ago, Science has done much to unveil the mechanisms behind their incredible efficiency in doing specific chemical transformations, and get a better insight of their structure-activity relationship.<sup>1</sup> The use of native enzymes in organic synthesis has been extensively studied over the past decades. Their field of applications ranges from kinetic resolution<sup>2-3</sup> to the introduction of specific functionalities on small molecules.<sup>4</sup> Enzymes are also tools of choice for asymmetric reactions, such as selective reductions, sometimes surpassing the best non-natural catalysts.<sup>5</sup> However, they suffer from major drawbacks. Among them one can pinpoint a low substrate scope, a poor tolerance to common reaction conditions, and only a handful of possible transformations. Directed evolution has been one solution to solve these issues, as native enzymes can be engineered to overcome their substrate specificity, and gain robustness over somewhat harsh operating conditions.<sup>1</sup> More recently, the design of artificial enzymes has been another way to overcome many of these issues.<sup>6</sup> The design of these species relies mainly on the covalent or non-covalent incorporation of a small catalyst inside a biomolecule, such as a protein<sup>7</sup> or DNA.<sup>8-9</sup> These macromolecules provide a natural and complex chiral environment around the encapsulated catalyst, thus leading to the formation of a wide family of chiral bio-hybrid catalysts, namely artificial enzymes mimicks or non-native enzymes. Among several incorporation strategies, the pioneering work of Whitesides and Wilson consisted in using the biotin-avidin technology to anchor a biotinylated Rh complex inside

avidin, leading to the formation of an artificial hydrogenase.<sup>10</sup> This artificial metalloenzyme was used for the asymmetric reduction of N-acetylalanine. Over the past decade, Ward *et al.* focused a part of their research toward the development of numerous artificial metalloenzymes based on the biotin-(strept)avidin complex.<sup>11-12</sup> Ward *et al.* elegantly showed that chemical optimization of their ligands, combined with rational protein engineering, can lead to the design of efficient artificial enzymes tailored for specific reactions.<sup>13-14</sup> Our group recently disclosed the conception and design of bio-hybrid species by encapsulating inside avidin a biotinylated-imidazolium salt bearing a non-chiral pyrrolidine-based catalytic anion. The assembled bio-hybrid catalyst was proven to be active in ionic liquids/water mixtures, efficiently catalyzing asymmetric aldol reactions.<sup>15</sup> While the reaction medium was shown to have a great influence on the behaviour of our catalyst, very little change was observed when modifying the structure of the cationic core of the imidazolium salt (Figure 5.1).

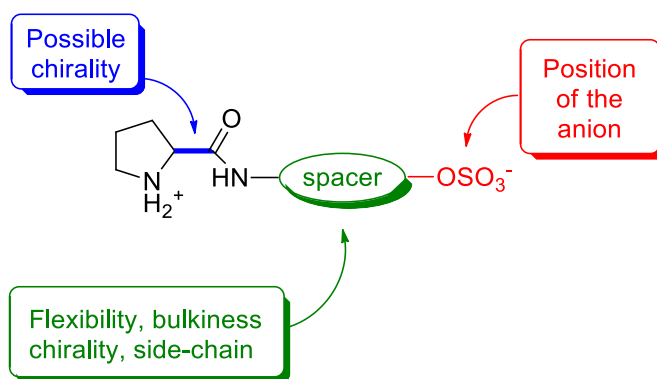


**Figure 5.1** : Variation of the anion structure

In order to gain better understanding how the anion positions itself inside avidin, we prepared several proline-based anions and combined them with the same biotinylated imidazolium salt. The role of these anions in catalysis and the tolerance of the optimized system to other substrates are reported here.

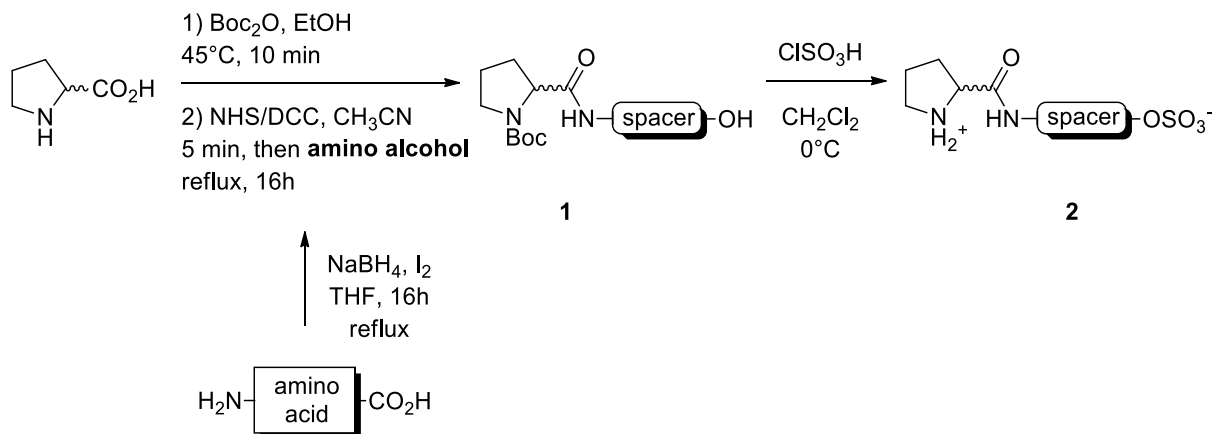
### 5.2.3 Results and Discussion

A total of eight anions were prepared, each displaying different physical and chemical properties. Our strategy was to keep the pyrrolidine moiety, responsible for catalysis, and insert a spacer between the amine site and the sulfate anion. We hypothesized that 1) adding an alkyl spacer might give flexibility to the anion and the length of this spacer might move the amine moiety apart from the imidazolium cation, placing the anion in a new chiral environment; 2) using chiral amino-alcohols as spacers might be beneficial by their intrinsic chirality; 3) using specific amino-alcohols might be interesting by providing the anion with specific properties, such as steric bulkiness, conformational freedom or  $\pi$ - $\pi$  interaction properties. In this way, the anion could interact with specific residues inside avidin's cavity, leading to new conformations and positions when embedded in the protein (Figure 5.2).



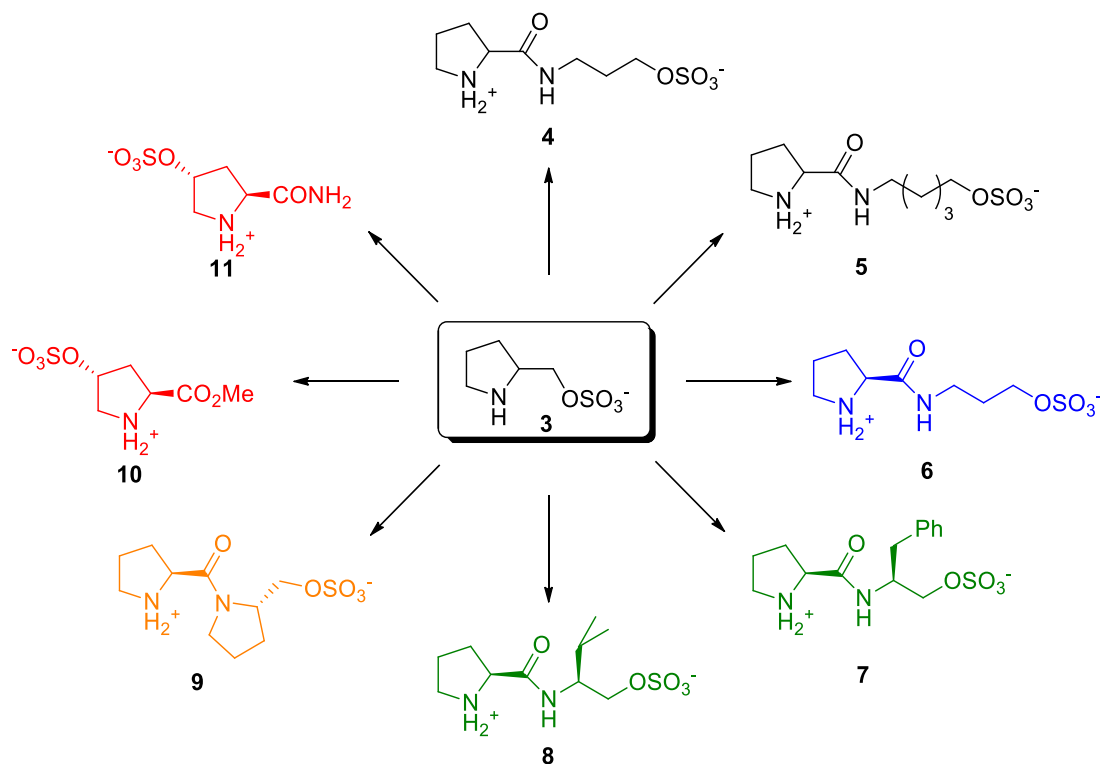
**Figure 5.2** : Design of the anion

The synthetic strategy is described in Scheme 1: the desired chiral/achiral version of proline was first Boc-protected, then a standard peptidic coupling between Boc-Proline **1** and the corresponding amino-alcohol afforded the hydroxy precursor **2**, which was then sulfonated using chlorosulfonic acid in  $CH_2Cl_2$ . Amino-alcohols were obtained from corresponding amino acids following the procedure reported by Meyers *et al.* (see Supporting Information).<sup>16</sup> Preparation of the corresponding biotinylated catalysts and encapsulation into avidin were carried out using our previously reported procedures.<sup>15</sup>



**Schéma 5.1** : Preparation of the zwitterionic precursors

All eight anion structures are reported in Figure 5.3, and the results obtained by using them in the aldol reaction are reported in Table 5.1. Anion **3**, the one used in our previous studies (Table 5.1, entry 1), was used as a mean of comparison with the 2<sup>nd</sup> generation of anions.



**Figure 5.3** : Structure of the zwitterionic precursors

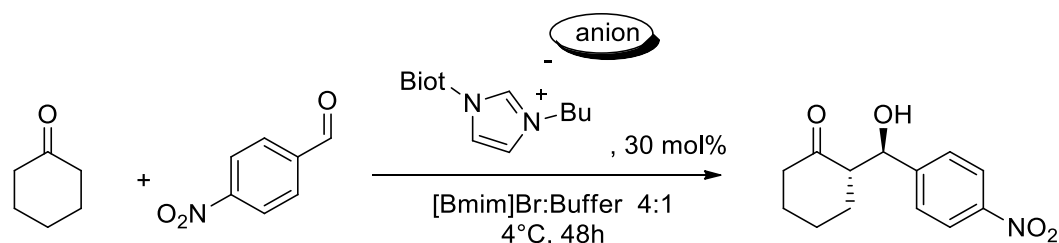
Each corresponding biotinylated catalyst was embedded into avidin and tested under our optimized reactions conditions, using a partitioned IL: aqueous buffer media. As control experiments, aldol reactions without avidin were carried out, with a substrate concentration 20 times higher in order to overcome the high dilution conditions necessary to ensure avidin solubilisation ( $[\text{Substrate}] = 2 \times 10^{-2} \text{ M}$ ).<sup>15</sup> Cyclohexanone and *p*-nitrobenzaldehyde were the model substrates used for these studies. From the results compiled in Table 5.1, several observations can be drawn out:

a) The use of racemic anions **4** and **5** possessing superior flexibility led to a lower stereocontrol of the corresponding bio-hybrid catalyst, the notation  $\mathbf{X} \cdot \mathbf{Av}$  will be used in this paper to designate the biotinylated catalyst obtained by the complexation of avidin with the imidazolium cation bearing the anion  $\mathbf{X}$ ), when compared to our previously reported  $\mathbf{3} \cdot \mathbf{Av}$ . When the corresponding biotinylated catalysts were not embedded into avidin, no enantioselectivity was observed. It seems that too much freedom inside avidin results in less steric discrimination, maybe due to the fact that the anion can occupy several places inside the protein. Conversions in both cases (with and without avidin) are very similar to those we already reported for the aldol reaction.<sup>17</sup>

b) When using L-proline as the amine precursor (entry 4), a rise in selectivity up to 70% *ee* was observed for anion **6**, compared to the D,L-proline used in the case of anions **4** and **5**. This might be a hint of a match-mismatch case between avidin and the catalyst. More surprisingly in this case, when the reaction was carried out without avidin, the selectivity was the same.

c) While keeping L-proline as a precursor, adding a chiral side chain, derived from natural amino acids (L-phenylalanine for compound **7**, and L-valine for compound **8**) led to better results in terms of selectivity. However, the catalytic performances of the free catalytic salts (without avidin), are similar, if not better, than the bio-hybrid catalysts. While it seems that avidin does not change the performances of these catalysts, there is no evidence of particular new interactions between the side chains added to the L-proline and avidin for the complexed catalysts.

**Table 5.1** : Anion screening



Entry	Anion	<i>With avidin</i>			<i>Without avidin</i> <sup>b</sup>		
		Conversion (%) <sup>a</sup>	<i>dr</i> (syn/anti) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (anti) <sup>a</sup>	Conversion (%) <sup>a</sup>	<i>dr</i> (syn/anti) <sup>a</sup>	<i>ee</i> (anti) <sup>a</sup>
1	<b>3</b>	94	32/68	70%	98	36/64	rac.
2	<b>4</b>	63	32/68	54%	>99	35/65	rac.
3	<b>5</b>	93	31/69	53%	94	36/64	rac.
4	<b>6</b>	76	33/67	70%	>99	35/65	69%
5	<b>7</b>	94	23/77	80%	>99	24/76	83%
6	<b>8</b>	75	27/73	76%	>99	27/73	81%
7	<b>9</b>	62	30/70	71%	58	54/46	83%
8	<b>10</b>	98	36/64	50%	89	35/65	53%
9	<b>11</b>	93	35/65	51%	98	20/80	82%

<sup>a</sup> Determined by chiral HPLC. <sup>b</sup> [Substrate] = 1 M

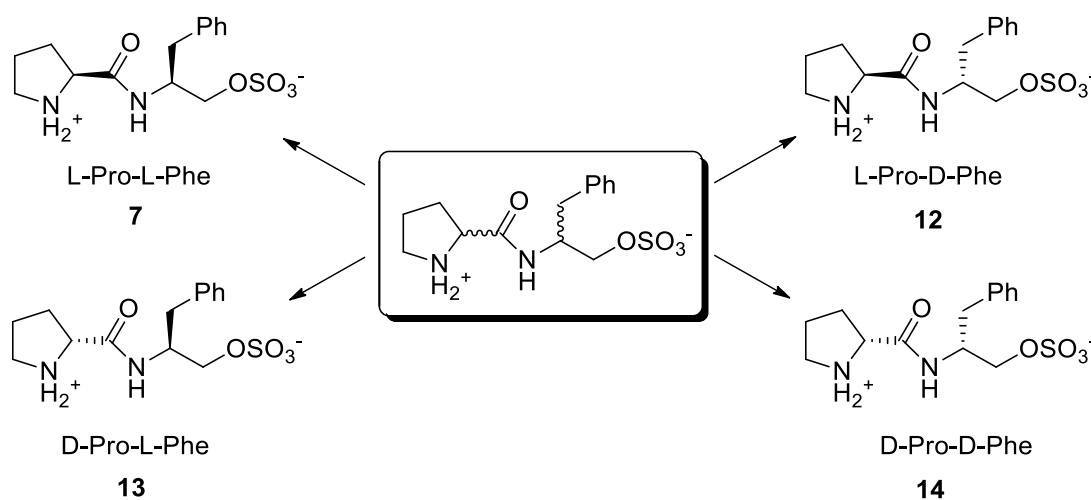
d) Lowering the number of possible conformations of the anion inside avidin, as in the case of anion **9**, based on a Pro-Pro scaffold (entry 7) did not lead to a better stereocontrol of the reaction, compared to anion **3**. Adding steric hindrance to the anion seems to lower the reactivity of the whole catalyst.

e) We previously reported the use of 1-butyl-3-methylimidazolium salt bearing anions **10** and **11** as catalysts for the aldol reaction.<sup>17</sup> The use of *trans*-4-hydroxy-L-proline derivatives in combination with the biotinylated imidazolium cation allowed the displacement of the sulfate charge closer to the amine site, compared to compounds **4-9**. However, the catalytic performances of the corresponding assembled catalysts were still lower than those obtained with **3**. Also, the introduction of a hydrogen-bonding group on the



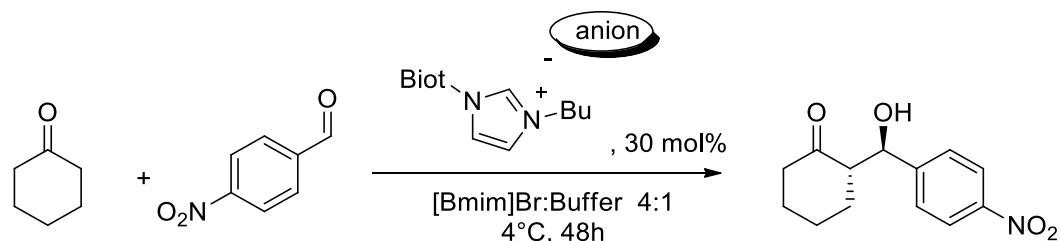
anion **11** did not enhance in any way the performances of the corresponding **11·Av** bio-hybrid catalyst.

At the light of these results, it seems that no strict rule can be applied toward the design of improved anions for our system, even though chiral anions perform better than racemic ones. We performed deeper investigations with the anion **7**, in order to get a better understanding of the possible match-mismatch cases observed when anion **6** was used. In this case, all four diastereoisomers of compound **7** were prepared (Figure 5.4) and the corresponding bio-hybrid catalysts assembled.



**Figure 5.4** : Diastereoisomers of **7**

Once again, their catalytic activity was assessed both with and without avidin in the aldol reaction (Table 5.2). When catalytic tests were carried out without avidin, the corresponding biotinylated catalysts afforded the aldol products with excellent conversion and good selectivities. The use of **7·Av** and **14·Av** gave the best results in terms of selectivity, each enantiomer of the anion affording each enantiomer of the aldol product with the same *ee*. Using **12·Av** and **13·Av** led to lower *ee*, but once again expectably led each to each enantiomer of the aldol product. However, their behaviour inside avidin is quite different. A trend emerges when looking at the results listed in Table 5.2.

**Table 5.2** : Influence of the chirality of the anion on the selectivity of the reaction

Entry	Anion	<i>With avidin</i>			<i>Without avidin</i> <sup>b</sup>		
		Conversion (%) <sup>a</sup>	<i>dr</i> ( <i>syn/anti</i> ) <sup>a</sup>	<i>ee</i> ( <i>anti</i> ) <sup>a</sup>	Conversion (%) <sup>a</sup>	<i>dr</i> ( <i>syn/anti</i> ) <sup>a</sup>	<i>ee</i> ( <i>anti</i> ) <sup>a</sup>
1	<b>7</b>	94	23/77	80%	>99	24/76	83%
2	<b>12</b>	86	28/72	63%	>99	27/73	62% <sup>c</sup>
3	<b>13</b>	87	37/63	6%	89	29/71	-63%
4	<b>14</b>	96	25/75	-9% <sup>c</sup>	87	30/70	-79% <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Determined by chiral HPLC. <sup>b</sup> [Substrate] = 1 M. <sup>c</sup> The enantiomer of the aldol product was obtained.

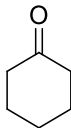
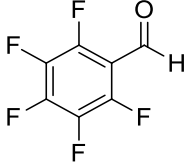
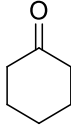
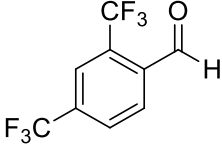
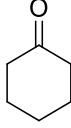
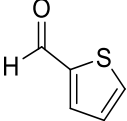
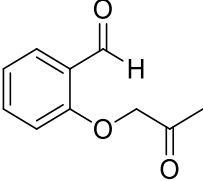
The best results were achieved both in terms of selectivity and conversion when **7·Av** was used, but these results were similar to those obtained without avidin. Nevertheless, the influence of avidin is more pronounced when bio-hybrid catalysts **12·Av** - **14·Av** were used. Surprisingly, better results were achieved when only natural amino-alcohols were used. The use of L-proline as first amino acid led to better results in terms of conversion and enantioselectivity with L-phenylalaninol, compared to those obtained when D-phenylalaninol was used. Replacing L-proline by a D-proline drastically diminished the performances of the bio-hybrid catalyst, as *ee* decreased to respectively to 6% and -9% (Table 5.2, entries 3 and 4), indicating that the chiral center closest to the amine site is the most important for the stereocontrol of the reaction. The drop of selectivity observed for D-proline and D-phenylalaninol inside avidin may be the result of the competition between the chiral induction of the avidin's cavity and the intrinsic chirality of the anion. This is a significant evidence of a match-mismatch case, as the corresponding catalyst in the absence of avidin afforded a better selectivity of the reaction. The addition of a side chain also seems beneficial for the

stereocontrol of the reaction, and a fine tuning process for the design of new catalytic anions using other natural amino-alcohols are currently undergoing in our group.

We also speculated that the use of a bio-hybrid catalysts in ionic liquid:aqueous mixture would be an asset in terms of substrate tolerance, as the anion possesses a larger freedom of movement inside avidin's cavity, compared to a covalently biotinylated amine catalyst. Bio-hybrid catalyst **7·Av** was used for substrates screening (Table 5.3). We were pleased to observe that our bio-hybrid catalyst tolerates several ketones and aldehydes. The use of a bulky aldehyde (entry 5) led to good results in terms of conversion and selectivity, despite a longer reaction time. Fluorous aldehydes were also tested, and afforded the corresponding aldol products with excellent conversions and selectivities (entries 6 and 7). 2-Thiophenecarboxaldehyde, however, displayed poor reactivity in spite of a good selectivity.

**Table 5.3** : Substrate scope

Entry	Ketone	Aldehyde	Conversion (%) <sup>a</sup>	ee (anti) <sup>a</sup>
1			94	80%
2			>99	34%
3			91	rac.
4 <sup>b</sup>			10	88%

5			93	96%
6			>99	84%
7			10	81%
9			>99% (Condensation product)	

<sup>a</sup>Determined by chiral HPLC. <sup>b</sup> The reaction was stirred 5 days.

An intramolecular aldol reaction was also performed using 2-(2-oxopropoxy)benzaldehyde (entry 9). The dihydrobenzofuranol resulting from the intramolecular aldol is a common motif found in several natural coumarins used for the treatment of skin diseases, such as vitiligo or psoriasis. Enders *et al.* used keto-aldehydes derivatives (entry 9) to study this type of intramolecular aldol reaction, using L-proline as catalyst, and applied this procedure to the total synthesis of Smyrindiol.<sup>18-19</sup> In the presence of **7·Av**, as well as **7** without avidin, we were surprised to observe the exclusive formation of the condensation product despite the absence of dehydration conditions, the formation of the aromatic benzofuranol being quite favored.

## 5.2.4 Conclusion

The preparation and catalytic studies of several anions in combination with a biotinylated imidazolium salt assessed the influence of the anion structure on the activity of bio-hybrid catalysts obtained with avidin. Even though the observed effects are still not completely understood, it is shown that the intrinsic chirality of the anion has an important

influence on the catalytic properties of the bio-hybrid species assembled with avidin. A match-mismatch case was also identified, supporting the hypothesis of cooperativity between avidin and the catalytic salt itself, in terms of stereocontrol of the aldol reaction. The substrate tolerance of the bio-hybrid catalyst was also put to use through the use of several ketones/aldehydes in the aldol reaction. Further optimization of the system could likely be achieved through molecular modeling and docking studies to identify the residues involved in the catalytic process. By saturation mutagenesis and directed evolution, fine tuning might also be achieved to further raise the cooperativity between the catalyst and the avidin. The advantage of these bio-hybrid system is that the catalyst and the protein could be optimized independently, followed by screening all combinations in a matrix format, if desired. The synthesis of other anions with different catalytic properties may broaden the scope of other possible reactions.

## 5.2.5 General Experimental Methods

### 5.2.5.1 Materials

All organic compounds were obtained commercially and used without further purification.  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra were recorded on 400, 300, 100 and 75 MHz spectrometers, respectively, in the indicated solvent. Chemical shifts are reported in ppm with internal reference to TMS, and  $J$  values are given in Hertz. All HPLC analysis were done using Chiralpak AD-H or OD columns and absolute configurations of the aldols products were based on previously reported literature.<sup>17</sup> HRMS/ESI measurement were done on a Quantum TSQ Ultra.

Boc-proline was obtained following the procedure described by Azizi *et al.*<sup>20</sup>

### 5.2.5.2 Representative procedure for the peptidic coupling between proline and the corresponding amino alcohol

*The 1.X family of compounds refers to the Boc-precursors of the corresponding X zwitterion, as they are mentioned in the paper*

Boc proline (1 eq.) and N-hydroxysuccinimide (1 eq) were dissolved in acetonitrile (1 ml/ mmol of Proline). Dicyclohexylcarbodiimide (1 eq.) was then added the reaction mixture and the formation of a precipitate (DCU) was observed after 10 minutes. Corresponding amino alcohol was then added to the reaction vessel, and the suspension was refluxed overnight. Upon completion, the reaction was allowed to cool down to room temperature and filtered to remove DCU. Methylene chloride was added to the filtrate and the organic phase was washed with water, dried upon magnesium sulfate, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel affording the desired compound

***tert*-butyl 2-((3-hydroxypropyl)carbamoyl)pyrrolidine-1-carboxylate (1.4 and 1.6):** Yields : White foam, 68% (compound 1.4); white foam 61% (compound 1.6); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 6.56 - 7.16 (m, 1 H), 4.24 (br. s., 1 H), 3.16 - 3.71 (m, 7 H), 1.78 - 2.36 (m, 4 H), 1.62 - 1.75 (m, 2 H), 1.44 ppm (s, 9 H), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (mixture of rotamers): δ = 173.9, 173.4, 155.6, 154.6, 80.5, 61.2, 60.1, 59.2, 47.1, 36.1 (br. s.), 32.3, 31.2 (br. s.), 28.4, 24.6, 23.7 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 273.18088; Found: 273.18020.

***tert*-butyl 2-((5-hydroxypentyl)carbamoyl)pyrrolidine-1-carboxylate (1.5):** Yield : Pale yellow foam, 65%; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 6.02 - 7.02 (m, 1 H), 4.26 (br. s., 1 H), 3.65 (t, J=6.0 Hz, 2 H), 3.07 - 3.51 (m, 4 H), 1.89 (br. s., 2 H), 1.77 (br. s., 3 H), 1.36 - 1.64 ppm (m, 15 H), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (mixture of rotamers): δ = 173.8, 173.5, 155.7, 154.7, 80.7, 61.2, 60.1, 59.2, 47.1, 36.2 (br. s.), 32.2, 31.1 (br. s.), 28.4, 24.6, 23.6 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 301.21218; Found: 301.21162.

***tert*-butyl 2-((1-hydroxy-3-phenylpropan-2-yl)carbamoyl)pyrrolidine-1-carboxylate (1.7 and 1.14) :** Yields : White foam, 61% (compound 1.7); White foam, 44% (compound 1.15); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.13 - 7.33 (m, 5 H), 6.24 - 6.80 (m, 1

H), 4.19 (br. s., 2 H), 3.49 - 3.74 (m, 2 H), 3.17 - 3.46 (m, 3 H), 2.66 - 3.02 (m, 2 H), 1.55 - 2.24 (m, 4 H), 1.44 ppm (br. s., 9 H), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (mixture of rotamers): δ = 173, 172.1, 155.7, 154.6, 137.7 (br. s.), 129.1, 128.5, 126.5, 80.7, 64.3, 63.8, 61.2, 60.5, 52.7, 52.4, 47. (br. s.), 37, 33.9, 30.9 (br. s.), 28.7, 28.3, 24.3, 23.3 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 349.21218; Found: 349.21202.

***tert*-butyl 2-((1-hydroxy-3-phenylpropan-2-yl)carbamoyl)pyrrolidine-1-carboxylate (1.12 and 1.13)** : Yields : White foam, 61% (compound 1.12); White foam, 44% (compound 1.13); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.12 - 7.36 (m, 5 H), 6.72 (br. s., 1 H), 4.08 - 4.23 (m, 2 H), 3.22 - 3.76 (m, 5 H), 2.88 (d, J=7.7 Hz, 2 H), 1.69 - 2.21 (m, 4 H), 1.44 ppm (br. s., 9 H), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (mixture of rotamers): δ = 173.2, 172.7, 155.6, 154.6, 137.9, 129.2, 128.5, 126.5, 80.6, 63.4, 61.2, 60.3, 53.1, 52.7, 47.1, 46.8, 36.9, 31.1, 28.9, 28.4, 24.6, 23.6 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 349.21218; Found: 349.21254.

**(S)-*tert*-butyl 2-(((S)-1-hydroxy-3-methylbutan-2-yl)carbamoyl)pyrrolidine-1-carboxylate (1.8)** : Yield : White foam, 56%. Spectroscopic data were in accordance with literature.<sup>21</sup>

#### 5.2.5.2.1 Preparation of compound 1.9

**(S)-*tert*-butyl 2-((S)-2-(hydroxymethyl)pyrrolidine-1-carbonyl)pyrrolidine-1-carboxylate (1.9)**: Under nitrogen atmosphere, Boc protected L-proline, (1g, 4.646 mmol, 1.05 eq.) and L-proline methyl ester hydrochloride<sup>22</sup> (1 eq) were suspended in 25 ml of dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, and DIPEA (3 eq.) was added. The limpid solution was cooled down to 0°C, and a solution of DCC (1.2 eq.) in dry DCM (5ml) was slowly added. The solution was allowed to stir 30 minutes at 0°C and overnight at room temperature. After completion, the DCU was filtered and the organic phase was washed with water, dried upon magnesium sulfate, filtered and evaporated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH : 99:1 then 95:5) to afford the desired Pro-Pro derivative **1.9-A** as a sticky foam (63%); <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 4.34 - 4.63 (m, 2 H), 3.77 (d, J=9.5 Hz, 1 H), 3.67 - 3.72 (m, 3 H), 3.33 - 3.66 (m, 3 H), 1.77 - 2.25 (m, 8 H), 1.33 - 1.49 ppm (m, 9 H), <sup>13</sup>C

NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (mixture of rotamers):  $\delta$  = 172.9, 172.6, 171.6, 171.1, 154.6, 153.7, 79.5, 79.4, 58.7 (d), 57.8, 57.7, 52.2, 52.0, 46.9, 46.7, 46.5 (d), 30, 29.0, 28.8, 28.7, 28.5, 28.4, 25 (d), 24.1, 23.6 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 327.19145; Found: 327.19148. Compound **1.9** was then prepared following a procedure reported by De Souza *et al.*<sup>23</sup> In a three-neck flask, compound **1.9-A** (659.2 mg) was dissolved in THF (10 ml), and NaBH<sub>4</sub> (6 eq.) was added. The mixture was allowed to stir at reflux for 15 minutes, then methanol (6 ml) was slowly added using an addition funnel over 30 min, inducing effervescence in the flask. The reaction was stirred at reflux overnight. After TLC completion, excess hydride was slowly quenched using H<sub>2</sub>O and the mixture was extracted 3 times with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. The combined organic phases were dried over magnesium sulfate, filtered and evaporated *in vacuo* to afford the desired product as a pale yellow foam (92 %). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  = 4.80 - 5.04 (m, 1 H), 4.02 - 4.55 (m, 2 H), 3.34 - 3.91 (m, 6 H), 1.50 - 2.31 (m, 8 H), 1.32 - 1.48 ppm (m, 9 H), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz) (mixture of rotamers):  $\delta$  = 174.2, 173.8, 171.6, 154.9, 154.2, 153.3, 79.8, 79.2, 67.2, 67.1, 66.2, 61.2, 60.8, 59.3, 57.6, 57.2, 47.2, 46.9, 46.5, 46.3, 45.3, 30.3, 29.5 (d), 28.9, 28.1, 28, 27.6, 27.4, 24.3, 24.2, 23.9, 23.3, 21.9 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: 299.19653; Found: 299.19633.

*NMR of this compound in dmsO-d<sub>6</sub> was carried out at different temperatures to confirm the presence of rotamers (See ESI).*

### 5.2.5.3 Representative procedure for the preparation of zwitterions **4** to **9**, and **13** to **15**

Under nitrogen, corresponding alcohol **1.X** was dissolved in dry dichloromethane (3 ml/mmol) and cooled down to 0°C. Chlorosulfonic acid (0.9 eq.) was added dropwise to the reaction mixture, and the reaction was allowed to stir an additional 2 hours at room temperature. After the reaction, the solvent was discarded and purification was achieved by flash chromatography on silica gel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: MeOH 8:2), affording the desired compound.

**3-(pyrrolidin-1-ium-2-carboxamido)propyl sulfate (4 and 6):** Yields : white sticky foam, 173.8 mg, 53% (Compound **4**); white sticky foam, 147.5 mg, 62% (Compound **6**); <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz):  $\delta$  = 4.26 (dd, J=8.3, 6.6 Hz, 1 H), 4.02 (t, J=6.0 Hz, 2 H), 3.23 - 3.41



(m, 4 H), 2.35 (d, J=8.4 Hz, 1 H), 1.92 - 2.04 (m, 3 H), 1.80 - 1.89 ppm (m, 2 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ = 169.5, 66.7, 59.8, 46.4, 36.5, 29.6, 27.7, 23.8 ppm. HRMS (ESI) m/z [M+H]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: 253.0853; Found: 253.0855.

**5-(pyrrolidin-1-ium-2-carboxamido)pentyl sulfate (5):** Yield : Pale yellow sticky foam, 147.4mg, 42%. <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 4.25 (t, J=7.2 Hz, 1 H), 3.97 (t, J=6.1 Hz, 2 H), 3.08 - 3.42 (m, 4 H), 2.30 - 2.43 (m, 1 H), 1.89 - 2.02 (m, 3 H), 1.61 (quin, J=6.7 Hz, 2 H), 1.49 (quin, J=7.0 Hz, 2 H), 1.33 ppm (quin, J=7.5 Hz, 2 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ = 168.9, 68.8, 59.4, 46.1, 39, 29.4, 27.5, 27.1, 23.4, 21.7 ppm. HRMS (ESI) m/z [M+H]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: 281.1166; Found: 281.1160.

**3-phenyl-2-(pyrrolidin-1-ium-2-carboxamido)propyl sulfate (7 and 14):** Yields: White solid, 381.9 mg, 92% (compound 7); white solid, 268.6 mg, 69% (Compound 14). These compounds can be purified by recrystallization in ethanol; <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 7.17 - 7.38 (m, 5 H), 4.27 - 4.38 (m, 1 H), 4.11 - 4.20 (m, 1 H), 4.03 - 4.10 (m, 1 H), 3.90 - 4.01 (m, 1 H), 3.17 - 3.39 (m, 2 H), 2.88 - 2.98 (m, 1 H), 2.68 - 2.79 (m, 1 H), 2.24 - 2.38 (m, 1 H), 1.94 ppm (d, J=6.4 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ = 170, 138.4, 130.1, 129.5, 127.7, 70, 60.4, 51.7, 473, 36.5, 30.7, 24.4 ppm. HRMS (ESI) m/z [M+H]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: 329.1166; Found: 329.1173.

**3-phenyl-2-(pyrrolidin-1-ium-2-carboxamido)propyl sulfate (12 and 13):** Yields: White solid, 281 mg, 62% (compound 12); white solid, 221.8 mg, 68 % (Compound 13). These compounds can be purified by trituration in cold ethanol; <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 7.13 - 7.38 (m, 5 H), 4.40 (m, 1 H), 4.07 - 4.23 (m, 2 H), 3.96 - 4.04 (m, 1 H), 3.18 (t, J=7.1 Hz, 2 H), 2.99 (dd, J=14.2, 4.1 Hz, 1 H), 2.67 (m, 1 H), 2.09 (m, 1 H), 1.80 (m, 1 H), 1.58 (m, 1 H), 1.34 ppm (m, 1 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ = 169.9, 138.2, 130.1, 129.4, 127.6, 70.4, 60.4, 51.3, 47.1, 36.9, 30.6, 24.2 ppm. HRMS (ESI) m/z [M+H]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: 329.1166; Found: 329.1173.

**(S)-3-methyl-2-((S)-pyrrolidin-1-ium-2-carboxamido)butyl sulfate (8):** Yield: White foam, 218.8 mg, 42%; <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 4.29 (dd, J=8.3, 6.7 Hz, 1 H), 4.02 - 4.10 (m, 1 H), 3.94 - 4.01 (m, 1 H), 3.79 (td, J=7.3, 3.6 Hz, 1 H), 3.21 - 3.42 (m, 2 H), 2.29 - 2.41 (m, 1 H), 1.90 - 2.09 (m, 3 H), 1.74 - 1.85 (m, 1 H), 0.86 ppm (dd, J=16.8, 6.7

Hz, 6 H),  $^{13}\text{C}$  NMR  $\{^1\text{H}\}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 75 MHz):  $\delta = 170.1, 69.5, 59.8, 55, 46.5, 30.1, 28.5, 23.7, 18.5, 18$  ppm. HRMS (ESI)  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  Calcd for  $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ : 281.1166; Found: 281.1174.

**((S)-1-((S)-pyrrolidin-1-ium-2-carbonyl)pyrrolidin-2-yl)methyl sulfate (9):**  
Yield: white solid, 134 mg, 28%;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz) (mixture of rotamers):  $\delta = 5.03 - 5.32$  (m, 1 H), 4.80 - 4.88 (m, 1 H), 4.75 (dd,  $J=10.3, 4.8$  Hz, 1 H), 4.46 - 4.59 (m, 1 H), 4.08 - 4.15 (m, 1 H), 3.97 - 4.05 (m, 2 H), 3.92 (tt,  $J=10.8, 7.0$  Hz, 1 H), 2.97 - 3.10 (m, 1 H), 2.37 - 2.66 ppm (m, 7 H),  $^{13}\text{C}$  NMR  $\{^1\text{H}\}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 100 MHz) (mixture of rotamers):  $\delta = 168.9, 168.4, 69.6, 68.1, 60.1, 59.9, 57.6, 57.4, 48.1, 47.6, 47.4, 46.8, 29.4, 29.1, 18.2, 27.1, 24.5, 24.3(9), 24.3(6), 21.6$  ppm. HRMS (ESI)  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  Calcd for  $\text{C}_5\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_5\text{S}^+$ : 209.02377; Found: 209.02386.

#### 5.2.5.4 Representative procedure for the preparation of biotinylated salts Biot-4 to Biot-11

*The **Biot.X** family of compounds refers to the corresponding biotinylated imidazolium salts bearing the anion X. These compounds are NOT designated as such in the paper, to avoid confusion with the bio-hybrid catalysts*

The biotinylated imidazolium bromide salt precursor was synthesized following our reported procedure. The preparation of the catalytic biotinylated imidazolium salts is based on our published procedure, with minor modifications.

The biotinylated imidazolium bromide salt (50 mg, 0.102 mmol) was dissolved in MeOH (2 ml) and passed through an IRA-400 HO form exchange resin (1.5 g). The resin was then washed with MeOH (2x3 ml), and corresponding zwitterion (1.05 eq.) was added to the reaction vessel. The mixture was stirred overnight at room temperature. The methanol and resulting water were removed under reduced pressure, the residue was dissolved in 1 ml of  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}$  (95/5) and allowed to cool down at  $-8^\circ\text{C}$  for 3h. The resulting solid was filtered, the filtrate was evaporated under reduced pressure and dried under vacuum to give the desired product as a yellow foam.

**3-butyl-1-(3-(5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-imidazol-3-ium 3-(pyrrolidine-2-carboxamido)propyl sulfate (Biot-4 and Biot-6):** Yields: 47.8 mg, 71% (compound Biot-4); 51.8 mg, 77% (compound Biot-6); <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 7.44 (s, 2 H), 4.53 (dd, J=7.6, 4.9 Hz, 1 H), 4.34 (dd, J=7.8, 4.5 Hz, 1 H), 4.14 (dt, J=13.8, 7.0 Hz, 4 H), 4.01 (t, J=6.0 Hz, 2 H), 3.73 (d, J=6.6 Hz, 1 H), 3.22 - 3.31 (m, 2 H), 3.12 - 3.20 (m, 2 H), 2.83 - 3.02 (m, 3 H), 2.68 (d, J=13.0 Hz, 1 H), 1.99 - 2.25 (m, 5 H), 1.16 - 1.88 (m, 16 H), 0.85 ppm (t, J=7.4 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ = 176.9, 175.8, 165.3, 122.5, 122.3, 66.7, 62.1, 60.2, 60.1, 55.5, 49.4, 47, 46.4, 39.7, 36.1, 35.8, 35.4, 31.2, 30.3, 28.9, 28, 27.9, 27.7, 25.1, 25, 18.8, 12.6 ppm. HRMS (ESI) m/z [M\*]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S<sup>+</sup>: 408.2428; Found: 408.2436; m/z [M\*]<sup>-</sup> Calcd for C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S<sup>-</sup>: 251.0707; Found: 251.0713.

**3-butyl-1-(3-(5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-imidazol-3-ium 5-(pyrrolidine-2-carboxamido)pentyl sulfate-(Biot-5):** Yield: 48.4 mg, 69%; <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 7.44 (s, 2 H), 4.46 - 4.56 (m, 1 H), 4.33 (dd, J=7.5, 4.4 Hz, 1 H), 4.14 (dt, J=14.0, 7.0 Hz, 4 H), 3.97 (t, J=6.1 Hz, 2 H), 3.77 (d, J=6.6 Hz, 1 H), 3.07 - 3.32 (m, 5 H), 2.85 - 3.06 (m, 3 H), 2.67 (d, J=13.0 Hz, 1 H), 2.08 - 2.23 (m, 3 H), 2.03 (m, 2 H), 1.42 - 1.83 (m, 13 H), 1.16 - 1.37 (m, 6 H), 0.84 ppm (t, J=7.3 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ = 176.9, 174.7, 165.3, 122.5, 122.3, 69.1, 62.1, 60.3, 60.1, 55.5, 49.4, 47, 46.4, 39.7, 39.1, 35.9, 35.4, 31.2, 30.4, 28.9, 28, 28, 27.8, 27.7, 25.1, 24.9, 22.3, 18.8, 12.7 ppm. HRMS (ESI) m/z [M\*]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S: 409.2506; Found: 409.2489; m/z [M\*]<sup>-</sup> Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S<sup>-</sup>: 279.1027; Found: 279.1027.

**3-butyl-1-(3-(5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-imidazol-3-ium 3-phenyl-2-(pyrrolidine-2-carboxamido)propyl sulfate (Biot-7 and Biot-14):** Yields: 73.5 mg, 98% (compound Biot-7); 53.3 mg, 71% (Compound Biot-14); <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 7.41 (s, 2 H), 7.13 - 7.33 (m, 5 H), 4.43 - 4.53 (m, 1 H), 4.22 - 4.35 (m, 2 H), 4.05 - 4.17 (m, 4 H), 3.89 - 4.05 (m, 2 H), 3.70 (dd, J=8.2, 6.3 Hz, 1 H), 3.09 - 3.26 (m, 3 H), 2.81 - 2.96 (m, 4 H), 2.59 - 2.78 (m, 2 H), 2.15 (t, J=7.2 Hz, 2 H), 1.95 - 2.10 (m, 3 H), 1.39 - 1.81 (m, 9 H), 1.16 - 1.38 (m, 4 H), 0.83 ppm (t, J=7.3 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ = 176.8, 174.4, 165.2, 137.6,

129.3, 128.6, 126.8, 122.5, 122.3, 69.2, 60.2, 59.9, 55.5, 50.3, 49.4, 47, 46.4, 39.7, 36.1, 35.8, 34.4, 31.2, 30.3, 28.9, 28, 27.7, 25.1, 24.7, 19.9, 12.7 ppm. HRMS (ESI)  $m/z$   $[M^*]^+$  Calcd for  $C_{20}H_{34}N_5O_2S^+$ : 408.2428; Found: 408.2438;  $m/z$   $[M^*]^-$  Calcd for  $C_{14}H_{19}N_2O_5S^-$ : 327.1020 Found: 327.1029.

**3-butyl-1-(3-(5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-imidazol-3-ium** **3-phenyl-2-(pyrrolidine-2-carboxamido)propyl sulfate (Biot-12 and Biot-13):** Yields: 63.3 mg, 91% (compound **Biot-12**); 61.5 mg, 82% (Compound **Biot-13**);  $^1H$  NMR ( $D_2O$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.41 (s, 2 H), 7.15 - 7.30 (m, 5 H), 4.49 (s, 1 H), 4.25 - 4.36 (m, 2 H), 3.94 - 4.17 (m, 6 H), 3.66 - 3.74 (m, 1 H), 3.17 - 3.27 (m, 1 H), 3.10 - 3.16 (m, 2 H), 2.81 - 2.97 (m, 4 H), 2.60 - 2.71 (m, 2 H), 2.16 (t,  $J=7.2$  Hz, 2 H), 2.00 (dd,  $J=14.2, 7.4$  Hz, 3 H), 1.70 - 1.81 (m, 2 H), 1.41 - 1.69 (m, 6 H), 1.15 - 1.39 (m, 5 H), 0.83 ppm (t,  $J=7.4$  Hz, 3 H),  $^{13}C$  NMR  $\{^1H\}$  ( $D_2O$ , 75 MHz):  $\delta$  = 176.5, 173.5, 164.9, 137.2, 129, 128.2, 126.4, 122.1, 121.9, 69.1, 61.7, 59.9, 59.4, 55.1, 49.8, 49, 46.6, 45.8, 39.3, 35.8, 35.4, 35, 30.8, 28.5, 27.6, 27.3, 24.7, 24.1, 18.4, 12.3 ppm. HRMS (ESI)  $m/z$   $[M^*]^+$  Calcd for  $C_{20}H_{34}N_5O_2S^+$ : 408.2428; Found: 408.2432;  $m/z$   $[M^*]^-$  Calcd for  $C_{14}H_{19}N_2O_5S^-$ : 327.1020; Found: 327.1024.

**3-butyl-1-(3-(5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-imidazol-3-ium** **(*S*)-3-methyl-2-((*S*)-pyrrolidine-2-carboxamido)butyl sulfate (Biot-8):** Yield: 68.7 mg, 98%;  $^1H$  NMR ( $D_2O$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.44 (s, 2H), 4.52 (br. s., 1 H), 4.33 (br. s., 1 H), 4.14 (dt,  $J=13.2, 6.6$  Hz, 4 H), 3.97 - 4.03 (m, 2 H), 3.77 (d,  $J=5.7$  Hz, 2 H), 3.11 - 3.30 (m, 3 H), 2.85 - 3.05 (m, 3 H), 2.67 (d,  $J=13.0$  Hz, 1 H), 1.96 - 2.24 (m, 5 H), 1.18 - 1.85 (m, 14 H), 0.72 - 0.93 ppm (m, 9 H),  $^{13}C$  NMR  $\{^1H\}$  ( $D_2O$ , 75 MHz):  $\delta$  = 176.8, 175.4, 165.3, 122.5, 122.3, 68.5, 62.11, 60.25, 60.1, 5.5, 54.4, 49.4, 47, 46.5, 39.7, 35.8, 35.4, 31.2, 30.63, 28.9, 28.6, 28, 27.7, 25.1, 24.9, 18.8, 18.6, 17.9, 12.7 ppm. HRMS (ESI)  $m/z$   $[M^*]^+$  Calcd for  $C_{20}H_{34}N_5O_2S^+$ : 408.2428; Found: 408.2435;  $m/z$   $[M^*]^-$  Calcd for  $C_{10}H_{19}N_2O_5S^-$ : 279.1020; Found: 279.1028.

**3-butyl-1-(3-(5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1*H*-imidazol-3-ium** **((*S*)-1-((*S*)-pyrrolidine-2-carbonyl)pyrrolidin-2-yl)methyl sulfate (Biot-9):** Yield: 231 mg, 33%;  $^1H$  NMR ( $D_2O$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.44 (s, 2 H), 4.53 (dd,  $J=7.8, 4.9$  Hz, 1 H), 4.06 - 4.37 (m, 7 H), 3.95 (dd,  $J=9.6,$

2.8 Hz, 1 H), 3.37 - 3.58 (m, 2 H), 2.86 - 3.30 (m, 6 H), 2.68 (d, J=13.0 Hz, 1 H), 1.13 - 2.39 (m, 23 H), 0.84 ppm (t, J=7.3 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ 177, 171.3, 165.3, 122.5, 122.3, 68.9, 67.5, 32.1, 60.2, 28.9, 28.7, 26.7, 56.4, 55.4, 55.4, 49.4, 47.4, 47, 46.8, 46.6, 46.1, 39.7, 35.8, 35.4, 31.2, 29.4, 29.2, 28.9, 28, 27.7, 27.5, 26.5, 25, 24.8, 24.7, 23.8, 21, 18.8, 12.6 ppm. HRMS (ESI) m/z [M\*]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S<sup>+</sup>: 408.2428; Found: 408.2436; m/z [M\*]<sup>-</sup> Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S<sup>-</sup>: 277.0864; Found: 277.0869.

**3-butyl-1-(3-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1H-imidazol-3-ium (3R,5S)-5-(methoxycarbonyl)pyrrolidin-3-yl sulfate (Biot-10):** Yield: 58.7 mg, 91%. <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 8.71 (s, 1 H), 7.44 (s, 2 H), 4.99 (br. s., 1 H), 4.48 - 4.56 (m, 1 H), 4.30 - 4.37 (m, 1 H), 4.08 - 4.25 (m, 5 H), 3.71 (s, 4 H), 3.08 - 3.33 (m, 5 H), 2.86 - 2.94 (m, 1 H), 2.68 (d, J=12.8 Hz, 1 H), 2.46 - 2.55 (m, 1 H), 2.18 (t, J=7.3 Hz, 3 H), 2.04 (t, J=6.8 Hz, 2 H), 1.16 - 1.83 (m, 9 H), 0.84 ppm (t, J=7.4 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ = 176.9, 174, 165.3, 135.3, 122.5, 12.3, 79.3, 62.1, 60.3, 58, 55.5, 53.1, 51.9, 49.4, 47.1, 39.7, 35.9, 35.8, 35.4, 32.2, 28.9, 28, 27.7, 25.1, 18.8, 12.6 ppm. HRMS (ESI) m/z [M\*]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S<sup>+</sup>: 408.2428; Found: 408.2240; m/z [M\*]<sup>-</sup> Calcd for C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>6</sub>S<sup>-</sup>: 224.0234; Found: 224.0234.

**3-butyl-1-(3-(5-((3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydro-1H-thieno[3,4-d]imidazol-4-yl)pentanamido)propyl)-1H-imidazol-3-ium (3R,5S)-5-carbamoylpyrrolidin-3-yl sulfate (Biot-11):** Yield: 55.5 mg, 88%. <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 8.72 (s, 1 H), 7.44 (s, 2 H), 4.95 (br. s., 1 H), 4.50 - 4.56 (m, 1 H), 4.31 - 4.37 (m, 1 H), 4.14 (dt, J=13.9, 7.1 Hz, 4 H), 3.94 (s, 1 H), 3.13 - 3.30 (m, 4 H), 3.10 (d, J=4.0 Hz, 1 H), 2.89 (d, J=5.0 Hz, 1 H), 2.68 (d, J=13.0 Hz, 1 H), 2.40 - 2.48 (m, 1 H), 2.18 (t, J=7.2 Hz, 2 H), 1.95 - 2.09 (m, 3 H), 1.72 - 1.83 (m, 2 H), 1.43 - 1.71 (m, 4 H), 1.24 (d, J=7.7 Hz, 4 H), 0.85 ppm (t, J=7.4 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR {<sup>1</sup>H} (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): δ = 178.4, 177, 165.3, 135.3, 122.5, 122.3, 80.8, 62.1, 62.3, 58.5, 55.4, 52.3, 49.4, 47, 39.7, 7.1, 35.8, 35.4, 31.22, 28.9, 28, 27.7, 25.1, 18.8, 12.6 . HRMS (ESI) m/z [M\*]<sup>+</sup> Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S<sup>+</sup>: 408.2428; Found: 408.2436; m/z [M\*]<sup>-</sup> Calcd for C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S<sup>-</sup>: 209.0238; Found: 209.0239.

### 5.2.5.5 Representative procedure for the aldol reaction.

The aldol reaction is carried in 100  $\mu$ l of a 8:2 solution of [Bmim]Br and TRIS buffer solution. Stock solution of starting materials and catalysts were prepared: **S**<sub>1</sub> refers to a 0.2 M solution of aldehyde in [Bmim]Br, **S**<sub>2</sub> refers to a 2 M solution of cyclohexanone in [Bmim]Br and **S**<sub>3</sub> refers to a 0.03 M solution catalyst in TRIS buffer solution (pH 3). In a vial, 12 mg of avidin (13.8 U/mg, binds 0.678  $\mu$ mol of biotinylated catalyst, 1.13 eq compared to catalyst) were suspended in 60  $\mu$ l of [Bmim]Br. 10  $\mu$ l of **S**<sub>2</sub> (20  $\mu$ mol, 10 eq.) and 20  $\mu$ l of **S**<sub>3</sub> (0.6  $\mu$ mol, 30 mol%) were added. Avidin was allowed to dissolve in the reaction medium and the reaction vial was stirred for 15 min at room temperature to allow the preformation of the catalytic species. 10  $\mu$ l of **S**<sub>1</sub> (2  $\mu$ mol, 1 eq.) were added and the reaction mixture was stirred for 48h at 4°C. Ether (0.5ml) was then added and the vial was vortexed for 1 minute. The ethereal phase was analyzed by chiral HPLC (ChiralPak AD-H column, Hexanes/IPA: 95/5, 0.5 ml/min,  $\lambda$  = 254 nm)  $t_R$  (anti isomer) = 47.10 (minor), 63.90 (major),  $t_R$  (syn isomer) = 32.14 (minor), 42.81 min (major).

### 5.2.6 Acknowledgments

This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Fonds Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies, the Centre of Green Chemistry and Catalysis and the Canada Foundation for Innovation and the Université de Montréal. The authors thank Sylvie Bilodeau for the variable temperature NMR experiments and colleagues for carefully discusses of this manuscript.

### 5.2.7 Supporting information available

<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR spectra and HPLC traces. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

### 5.2.8 References

- 1 Reetz, M. T., *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (34), 12480.
- 2 Lihammar, R.; Millet, R.; Backvall, J. E., *J. Org. Chem.* **2013**, *78* (23), 12114.
- 3 Hu, L.; Schaufelberger, F.; Zhang, Y.; Ramstrom, O., *Chem. Commun.* **2013**, *49* (88), 10376.

- 4 Vergne-Vaxelaire, C.; Bordier, F.; Fossey, A.; Besnard-Gonnet, M.; Debard, A.; Mariage, A.; Pellouin, V.; Perret, A.; Petit, J.-L.; Stam, M.; Salanoubat, M.; Weissenbach, J.; De Berardinis, V.; Zaparucha, A., *Adv. Synth. & Catal.* **2013**, *355* (9), 1763.
- 5 Hall, M.; Bommarius, A. S., *Chem. Rev.* **2011**, *111* (7), 4088.
- 6 Lewis, J. C., *ACS Catalysis* **2013**, *3* (12), 2954.
- 7 Diaz-Rodriguez, A.; Davis, B. G., *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2011**, *15* (2), 211.
- 8 Boersma, A. J.; Megens, R. P.; Feringa, B. L.; Roelfes, G., *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (6), 2083.
- 9 Deuss, P. J.; den Heeten, R.; Laan, W.; Kamer, P. C., *Chemistry* **2011**, *17* (17), 4680.
- 10 Wilson, M. E.; Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100* (1), 306.
- 11 Thomas, C. M.; Ward, T. R., *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34* (4), 337.
- 12 Ward, T. R., *Acc. Chem. Res.* **2011**, *44* (1), 47.
- 13 Hyster, T. K.; Knorr, L.; Ward, T. R.; Rovis, T., *Science* **2012**, *338* (6106), 500.
- 14 Zimbron, J. M.; Heinisch, T.; Schmid, M.; Hamels, D.; Nogueira, E. S.; Schirmer, T.; Ward, T. R., *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (14), 5384.
- 15 Gauchot, V.; Branca, M.; Schmitzer, A., *Chem. - Eur. J.* **2014**, *20* (6), 1530.
- 16 McKennon, M. J.; Meyers, A. I.; Drauz, K.; Schwarm, M., *J. Org. Chem.* **1993**, *58* (13), 3568.
- 17 Gauchot, V.; Schmitzer, A. R., *J. Org. Chem.* **2012**, *77* (11), 4917.
- 18 Enders, D.; Niemeier, O.; Straver, L., *Synlett* **2006**, *2006* (20), 3399.
- 19 Enders, D.; Fronert, J.; Bisschops, T.; Boeck, F., *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 1112.
- 20 Jahani, F.; Tajbakhsh, M.; Khaksar, S.; Azizi, M. R., *Monatsh. Chem.* **2011**, *142* (10), 1035.
- 21 Wang, B.; Chen, G.-h.; Liu, L.-y.; Chang, W.-x.; Li, J., *Adv. Synth. & Catal.* **2009**, *351* (14-15), 2441.
- 22 Reuter, C.; Huy, P.; Neudorfl, J. M.; Kuhne, R.; Schmalz, H. G., *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17* (43), 12037.
- 23 Da Costa, J. C. S.; Pais, K. C.; Fernandes, E. L.; De Oliveira, P. S. M.; Mendonça, J. S.; De Souza, M. V. N.; Peralta, M. A.; Vasconcelos, T. R. A., *ARKIVOC* **2006**, *1*, 128.

## **Conclusions et perspectives**



## 6.1 Bilan des travaux présentés

Le projet de recherche s'est axé au début sur le développement de sels d'imidazolium catalytiques dont l'anion est le catalyseur, espèces très peu étudiées à ce jour. Dans cette optique, deux sels d'imidazolium comportant un anion dérivé de la *trans*-4-hydroxy-L-proline ont été préparés et étudiés en catalyse asymétrique, pour des réactions d'aldol et d'addition de Michael en milieu liquide ionique. Les études mécanistiques de ces sels d'imidazolium nous a permis de démontrer que la chiralité intrinsèque de l'anion influe directement sur les propriétés d'induction chirale du catalyseur. Le rôle du cation imidazolium dans l'approche du substrat vers le complexe catalytique a été mis en évidence, le cation bloquant une des faces d'approche de l'électrophile vers l'ène-amine. Pour les réactions d'aldol, le rôle de l'anion a été étudié plus en détail, dans le cas d'aldéhydes moins réactifs. Ainsi, la modification du groupement ester pour un groupement amide, c'est-à-dire l'introduction d'un donneur de ponts hydrogènes, a permis l'activation de ce type de substrats moins réactifs par un mode d'action de type acide de Lewis. Ces études préliminaires ont servi à valider l'hypothèse de l'utilisation des sels d'imidazolium possédant un anion en synthèse asymétrique. La caractéristique principale de telles espèces repose sur leur grande modulabilité : une librairie d'anions peut être facilement préparée, et les catalyseurs sont aisément accessibles par simple métathèse d'anions, en partant du bromure de 1-butyl-3-méthylimidazolium commercial. De plus, la structure du cation imidazolium pourrait également participer au mode de fonctionnement du catalyseur, et par l'introduction de groupements fonctionnels sur les atomes d'azote N-1 et N-3 de nouvelles réactions pourraient être envisagées.

À la lumière de ces résultats, la deuxième partie de nos travaux s'est axé sur le développement d'un catalyseur bio-hybride, basé sur la technologie biotine-avidine, qui s'est montré actif en milieu liquide ionique. La fonctionnalisation du cation imidazolium par la D-biotine a permis d'assurer l'encapsulation virtuellement irréversible des sels d'imidazolium catalytiques, de façon non covalente, au sein de l'avidine. Des catalyseurs « racémiques » ont été utilisés afin d'évaluer l'apport de chiralité dû à la protéine, et les résultats ont montré

que cet apport est non seulement conséquent, mais également modulable, dépendamment des conditions réactionnelles utilisées.

Ainsi, l'utilisation d'un milieu aqueux tamponné, composé majoritairement de [Bmim]Br, a permis à l'avidine d'adopter une nouvelle conformation, sans pour autant la dénaturer, ni altérer sa complexation avec des dérivés de la D-biotine. L'utilisation d'un milieu tamponné acide a été nécessaire pour empêcher la réaction d'aldol par catalyse basique en dehors de l'avidine. Les résultats obtenus pour des réactions d'aldol ont été supérieurs à ceux obtenus en milieu totalement aqueux, démontrant l'importance de l'utilisation des liquides ioniques comme solvants. L'apport de chiralité de la protéine a également été étudié par comparaison des activités respectives des catalyseurs, inclus et non-inclus dans la protéine. Les résultats ont démontré des états de transition totalement différents pour les deux espèces, complexée et non complexée à l'avidine.

L'influence de la structure du catalyseur à l'intérieur de l'avidine a également été étudiée. L'introduction d'un espaceur dans la structure du cation, ayant pour but de modifier le positionnement de l'anion dans la cavité de l'avidine, et ainsi son environnement, a révélé que le cation jouait simplement le rôle de « navette » en solution, assurant l'inclusion de l'anion dans la protéine. L'introduction d'un espaceur chiral sur le cation n'a eu aucune influence sur le stéréocontrôle apporté par le catalyseur bio-hybride, et ne semble avoir non plus aucune influence sur l'activité des sels d'imidazolium « libres », non inclus dans l'avidine. Ceci peut se traduire par l'éloignement trop important des centres chiraux présents sur le cation, par rapport au site catalytique situé sur l'anion.

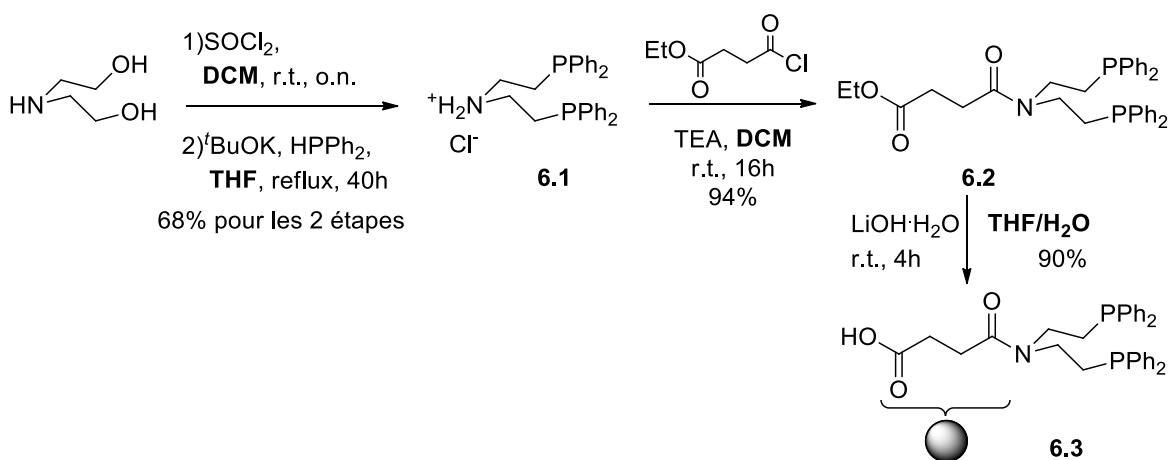
Dans cette optique, une librairie d'anions dérivés de la proline a été préparée et les catalyseurs bio-hybrides correspondants ont été testés dans des réactions d'aldol. Les résultats ont montré que la structure de l'anion joue un rôle direct dans l'induction de chiralité, et ont également révélé l'occurrence de cas « match-mismatch », dépendamment de la configuration absolue des anions. Enfin, suivant l'hypothèse que l'utilisation d'une paire d'ions comme catalyseurs permettrait une plus grande liberté de mouvement de l'anion dans la protéine, et ainsi une diminution des contraintes stériques, la tolérance de substrat de ces catalyseurs bio-hybrides a été étudiée et validée pour différentes cétones et aldéhydes.

Ainsi, le développement des sels d'imidazolium biotinylés, dont l'anion joue le rôle de catalyseur, et leur encapsulation dans l'avidine ont été réussis. L'influence de la seconde sphère de coordination, *i.e.* de l'avidine dans l'apport de chiralité en catalyse, a également été étudiée. L'intérêt d'utiliser ce type de catalyseur supramoléculaire a été démontré et ces résultats ouvrent la porte à la conception d'autres catalyseurs basés sur ces travaux.

Cependant, les limitations de ce type de catalyseur sont encore notables. Bien que ces travaux reposent majoritairement sur une preuve de concept, le coût de développement de ce type de catalyseur reste considérable, notamment l'utilisation de l'avidine elle-même (1 mg ~ 1 \$). La synthèse du sel d'imidazolium présente un coût non négligeable également, surtout au regard des quantités molaires de catalyseur utilisées. De plus, les performances de ces catalyseurs sont acceptables, mais de nombreux catalyseurs, plus petits et synthétiquement plus abordables pour des applications similaires, ont été rapportés dans la littérature.

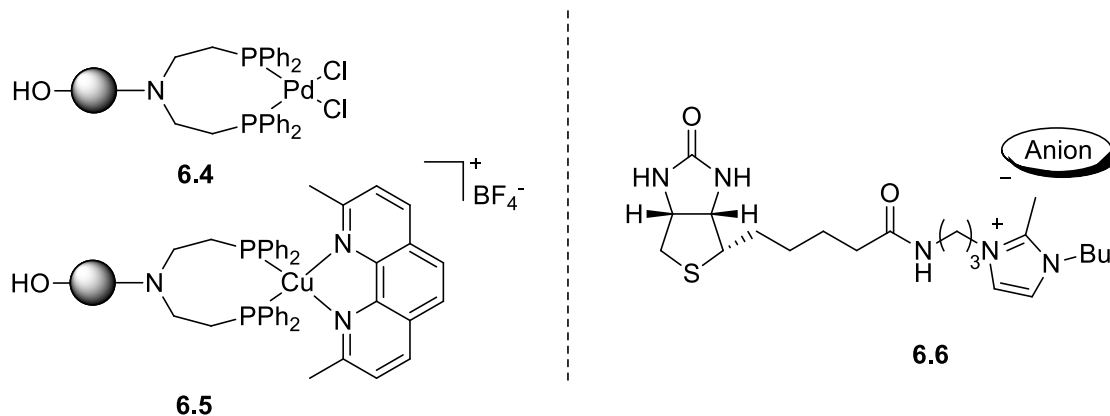
## 6.2 Perspectives

La métathèse d'anions à partir d'un dérivé imidazolium halogéné est une méthode rapide et facile pour l'introduction de contre-anions catalytiques pour des sels d'imidazolium. Le design de nouveaux anions catalytiques permettrait d'étendre les applications de ce type de catalyseurs bio-hybrides. La conception d'anions capable de lier des métaux de transition permettrait la préparation de métallo-enzymes supramoléculaires actives en milieu liquide ionique. Ainsi, la synthèse du composé **6.3** a été réalisée.



**Figure 6.1** : Préparation d'un précurseur de ligand diphosphine

Des complexes de palladium et de cuivre utilisant ce ligand ont également été préparés. Une fois ces complexes en main, l'obtention des sels d'imidazolium biotinylés peut être envisagée par métathèse anionique (Figure 6.2).



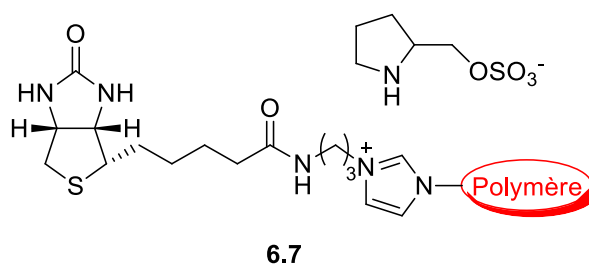
**Figure 6.2** : Complexes métalliques formés (**6.4** et **6.5**) à partir du composé **6.3**, et catalyseur biotinylé envisageable (**6.6**).

Le composé **6.4** pourrait servir dans des réactions de type Tsuji-Trost, où le contrôle chiral sera assuré par l'avidine. Le composé **6.5** est un analogue du catalyseur utilisé par Augusto Hernandez et Anna Vlassova du groupe Collins pour la préparation de [5]-héliènes.<sup>1</sup> L'utilisation de la cavité interne de l'avidine permettrait la préparation d'héliènes chiraux. La présence du groupement méthyle sur le cation imidazolium, ainsi que sur le cation du LI utilisé comme solvant, serait à envisager pour prévenir la formation de complexes parasites, décrits dans l'introduction.

Qualifiée par Thomas Ward de « procédé d'optimisation fine »,<sup>2</sup> l'évolution dirigée permettrait, parallèlement à l'étape d'optimisation chimique, d'identifier les résidus-clés impliqués dans le processus catalytique, et de les modifier pour moduler les propriétés finales du catalyseur bio-hybride. Cette voie d'optimisation n'a pas été étudiée durant ces travaux, et constitue un axe de travail intéressant pour la continuité du projet. Cependant, le changement de conformation observé au Chapitre 4 laisse à penser que les études de

« docking » nécessiteraient une meilleure compréhension de la conformation de l'avidine en milieu liquide ionique pour être viables.

Mathieu Branca, stagiaire post-doctoral au sein du groupe de février 2009 à septembre 2010, avait développé une méthode de purification de l'avidine présente dans le blanc d'œuf de poule en utilisant un liquide ionique fonctionnalisé par la biotine. Cette méthode permet de faire précipiter la majorité des protéines présente dans le blanc d'œuf tout en laissant l'avidine en solution. Des études d'extraction avec la famille de composés **6.7** ont été initiées par Simon Forest, pendant son stage durant l'été 2012. L'idée principale repose sur une méthode d'extraction en solution de l'avidine du blanc d'œuf, par des billes de polymère fonctionnalisées par un sel d'imidazolium biotinylé possédant déjà un anion catalytique (Figure 6.3).



**Figure 6.3** : Sel d'imidazolium biotinylé greffé sur une surface solide

L'étude de l'influence du taux de greffage a été étudiée par Simon, et le taux d'extraction a été estimé par électrophorèse sur gel. Bien qu'une faible extraction de l'avidine ait été mise en évidence, aucun résultat concluant n'a encore été obtenu et des études supplémentaires sont en cours. D'autres paramètres sont à étudier pour ce système, concernant notamment la structure du cation imidazolium, afin d'optimiser cette méthode d'extraction de l'avidine et de formation directe de l'espèce catalytique. Le développement de cette méthode permettrait d'abaisser de façon significative le coût de production de ce type de catalyseur bio-hybride.

### 6.3 Références

- 1 Hernandez-Perez, A. C.; Vlassova, A.; Collins, S. K., *Org. Lett.* **2012**, *14* (12), 2988.

- 2 Letondor, C.; Pordea, A.; Humbert, N.; Ivanova, A.; Mazurek, S.; Novic, M.; Ward, T. R., *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (25), 8320.

## **Partie Expérimentale**

## Remarques générales

Tous les réactifs utilisés ont été achetés chez Aldrich ou Alfa Aesar, et ont été utilisés sans purification supplémentaire, sauf exception mentionnée. Les réactions anhydres ont été effectuées dans de la verrerie préalablement séchée à la flamme, ou à l'étuve. Les solvants anhydres ont été obtenus par le biais d'un système de solvants GlassContour (Irvine CA). L'avidine a été achetée chez Lee Biosolutions.

Les spectres RMN ont été effectués sur des spectromètres de type Bruker Avance 300 et 400 MHz). Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont donnés en ppm relativement au solvant deutéré utilisé, ou au TMS, si présent. Les solvants deutérés ont été achetés chez CDN Isotopes, et utilisés sans purification subséquente. Les données ont été analysées grâce aux logiciels SpinWorks 2.5, et Topspin.

Les chromatogrammes HPLC ont été réalisés sur un système Agilent 1200 LC series, en utilisant des colonnes chirales de type Chiralpak AD-H et Chiralcel OD ( $\varnothing$  0.46 cm x 25 cm). Les chromatogrammes ont été analysés à l'aide du logiciel d'acquisition ChemStation B.03.01.

Les analyses de dichroïsme circulaire ont été effectuées sur un spectrophotomètre de type Chirascan™ (Applied Photophysics) et les spectrogrammes recueillis ont été traités avec le logiciel ProData™ Software Suit, puis finalisés sur Microsoft Excel.

Les spectres RMN des articles publiés ne sont pas rapportés dans le manuscrit dans le souci d'alléger la version papier de la thèse. Pour chaque nouveau composé, la caractérisation est rapportée à la fin de chaque protocole expérimental. Tous les spectres RMN sont cependant regroupés dans les parties expérimentales des articles présentés dans cette thèse, disponibles sur les sites internet des éditeurs correspondants. Les spectres RMN de l'article soumis sont inclus dans l'annexe 4.

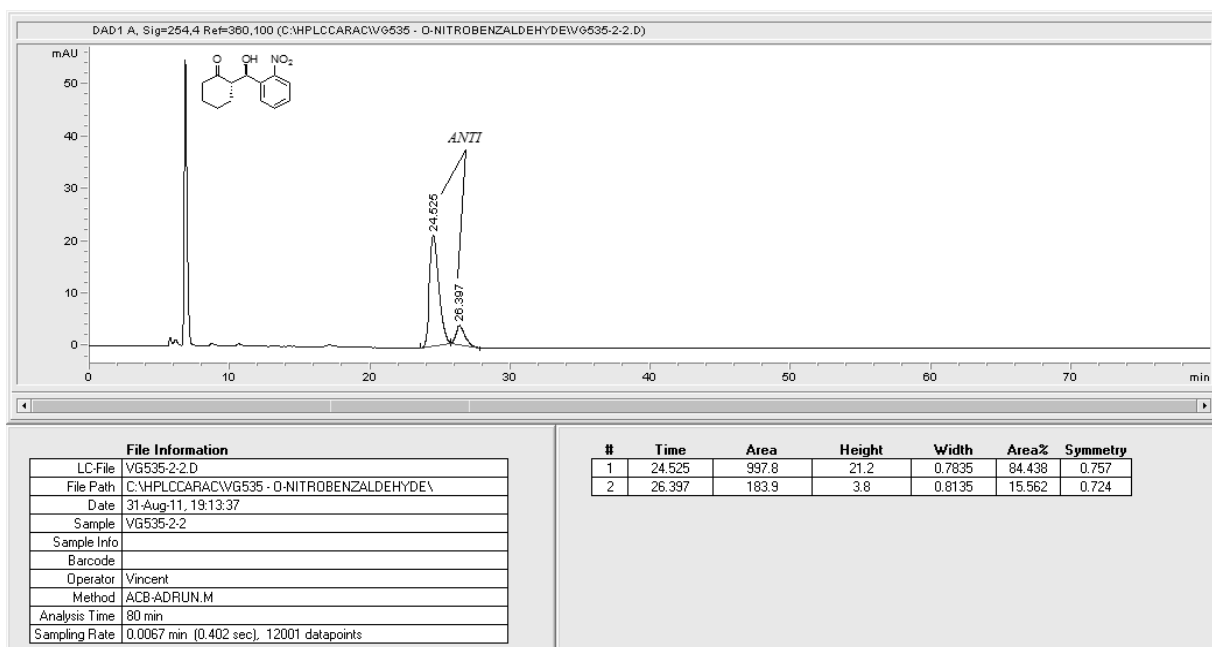
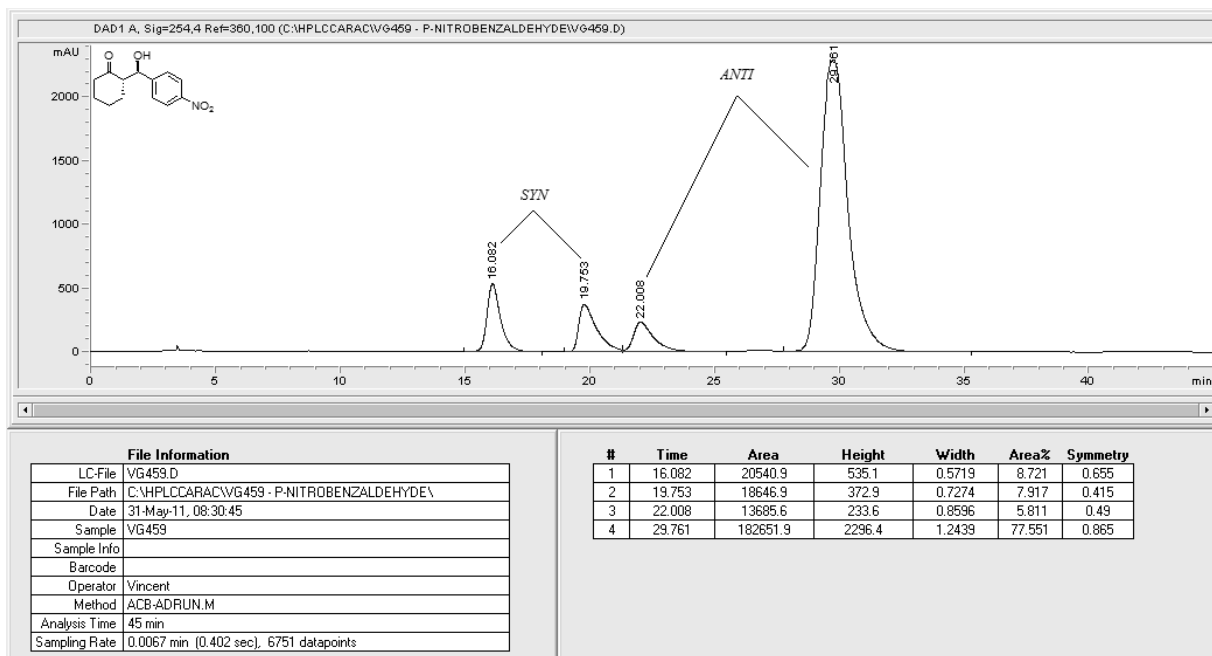


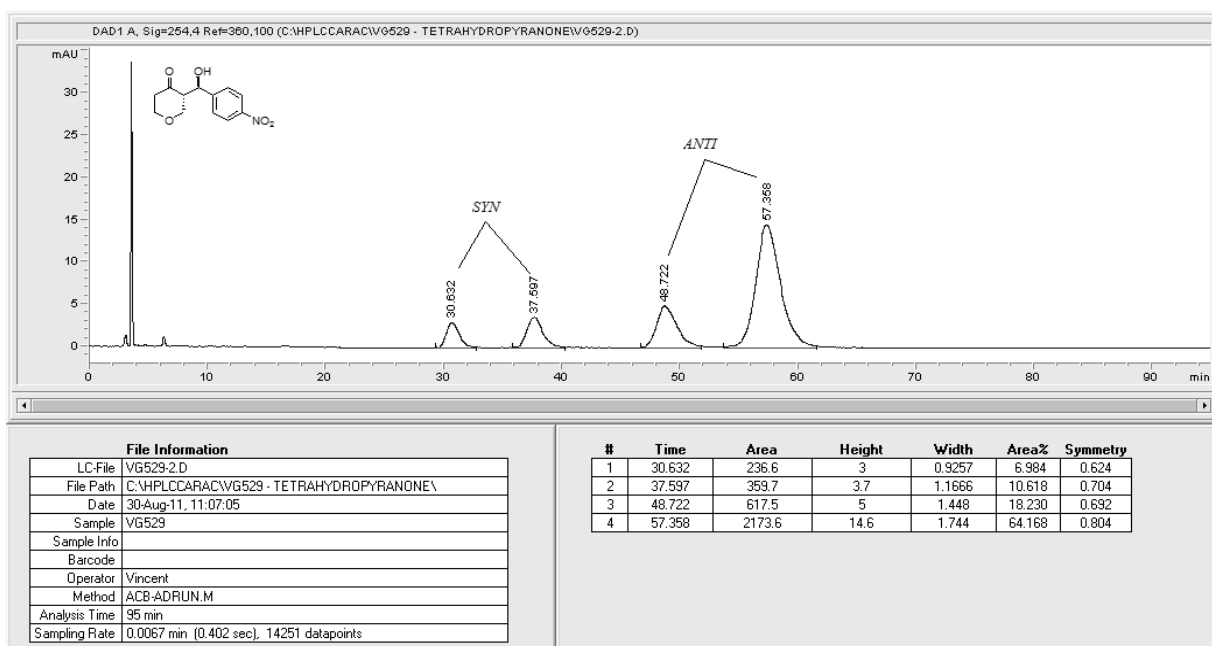
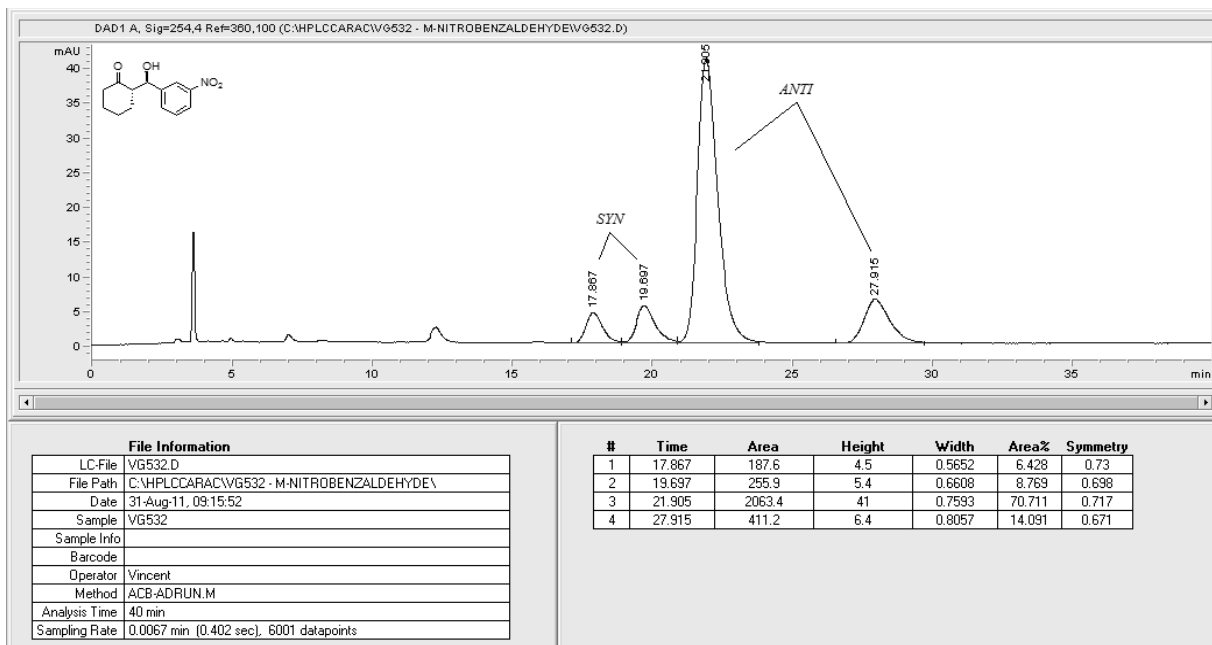
**Annexe 1 : Partie expérimentale de l'article 1 : « Asymmetric aldol reaction catalyzed by the anion of an ionic liquid »**

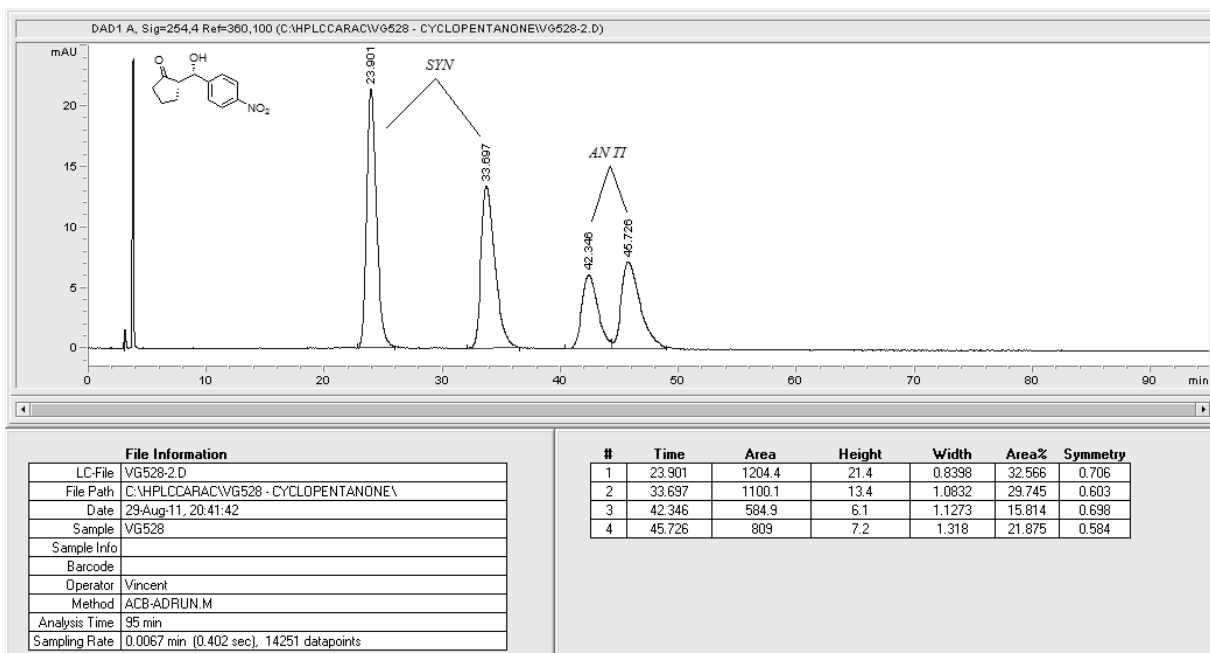
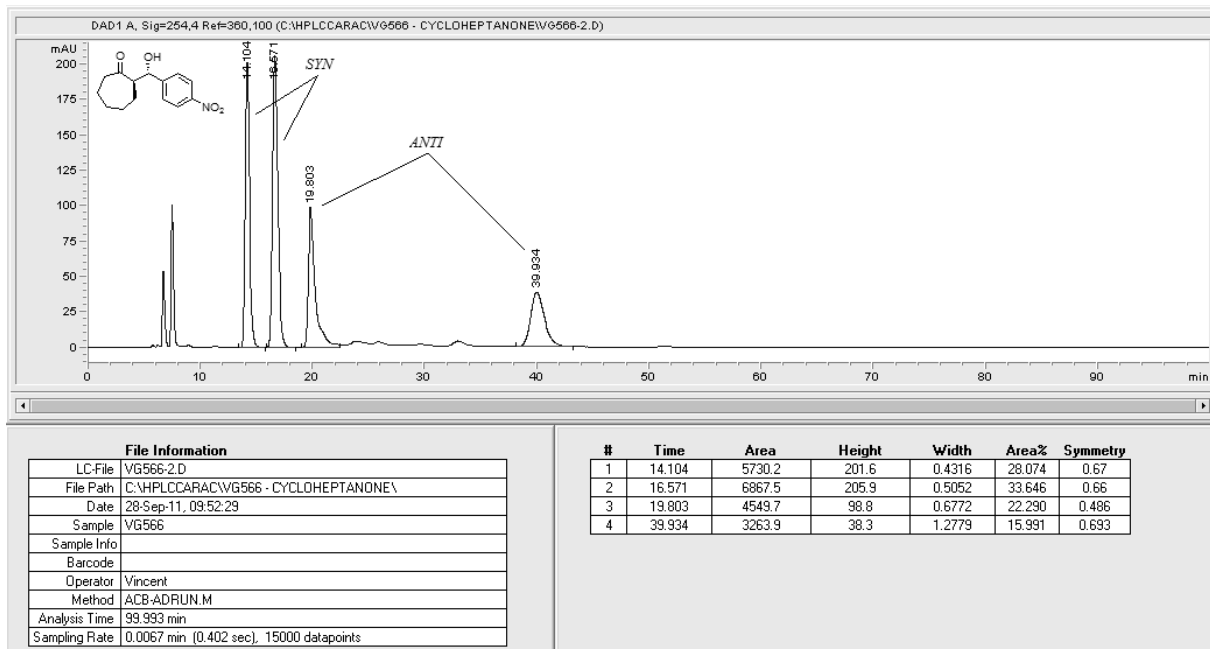
**General Remarks.**

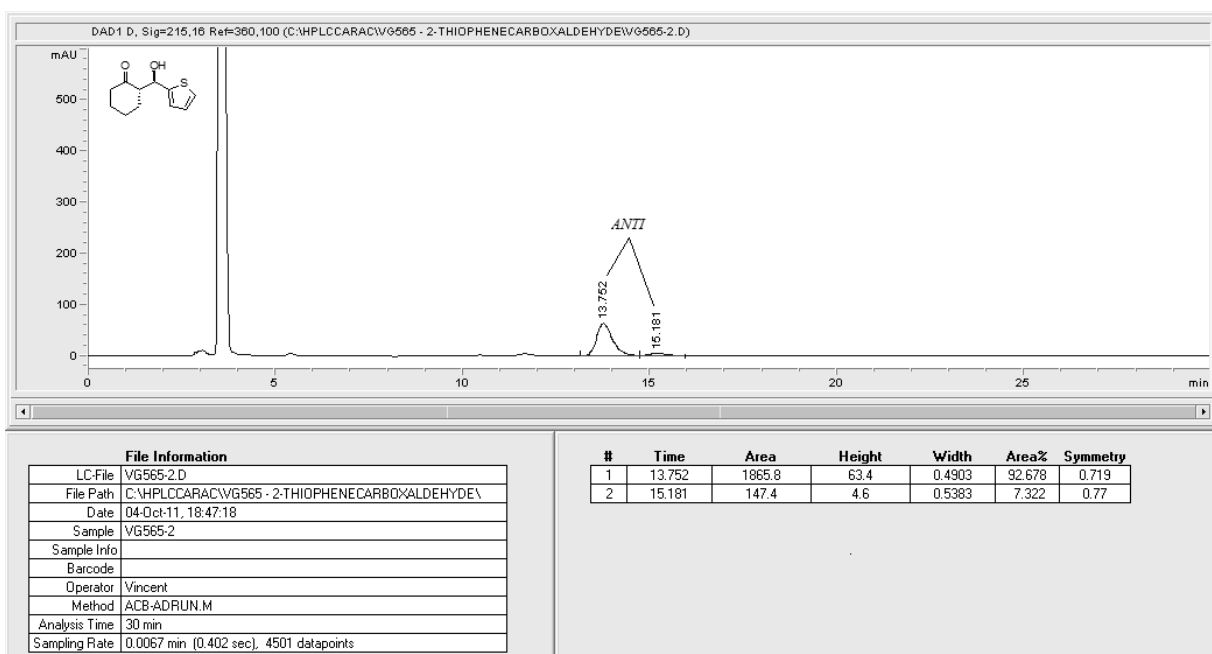
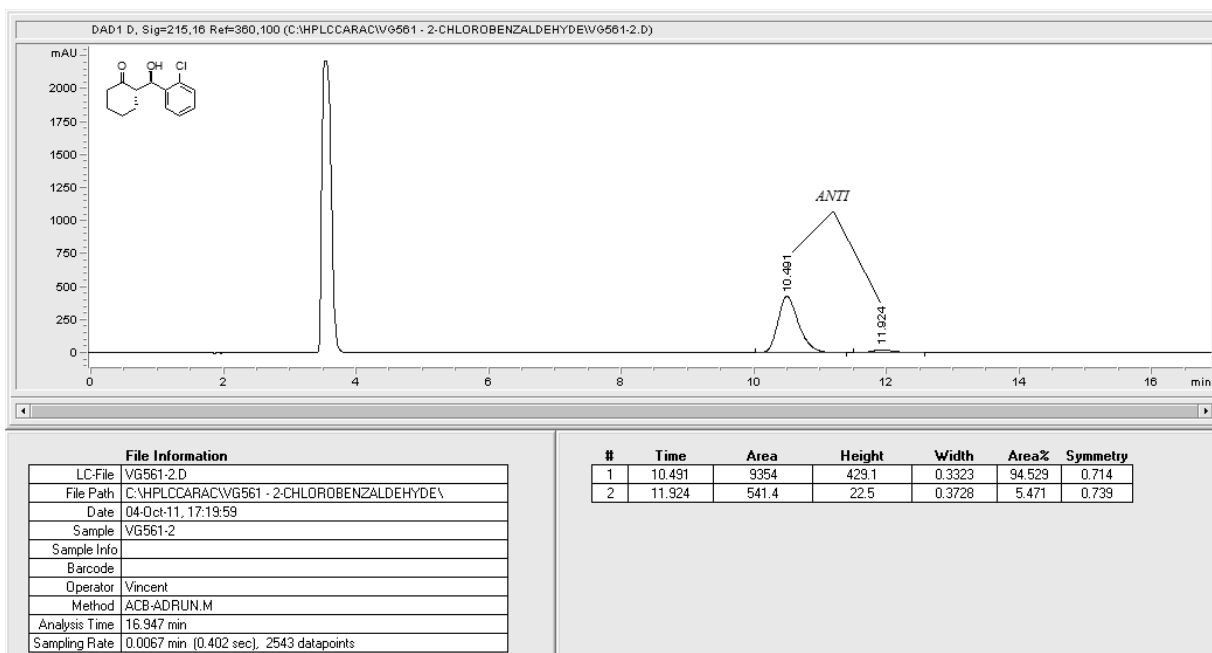
All organic compounds were purchased from Aldrich Chemicals in their highest available purity and used without further purification. Deuterated solvents were also purchased from Aldrich Chemicals.  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra were recorded on a Bruker spectrometer at 400, 300, 100 and 75 MHz, respectively, in the indicated solvent. Chemical shifts are reported in ppm with internal reference to TMS. High-resolution mass spectra (HRMS) were recorded on a LC-MSD-TOF instrument from Agilent technologies in positive electrospray mode in general.

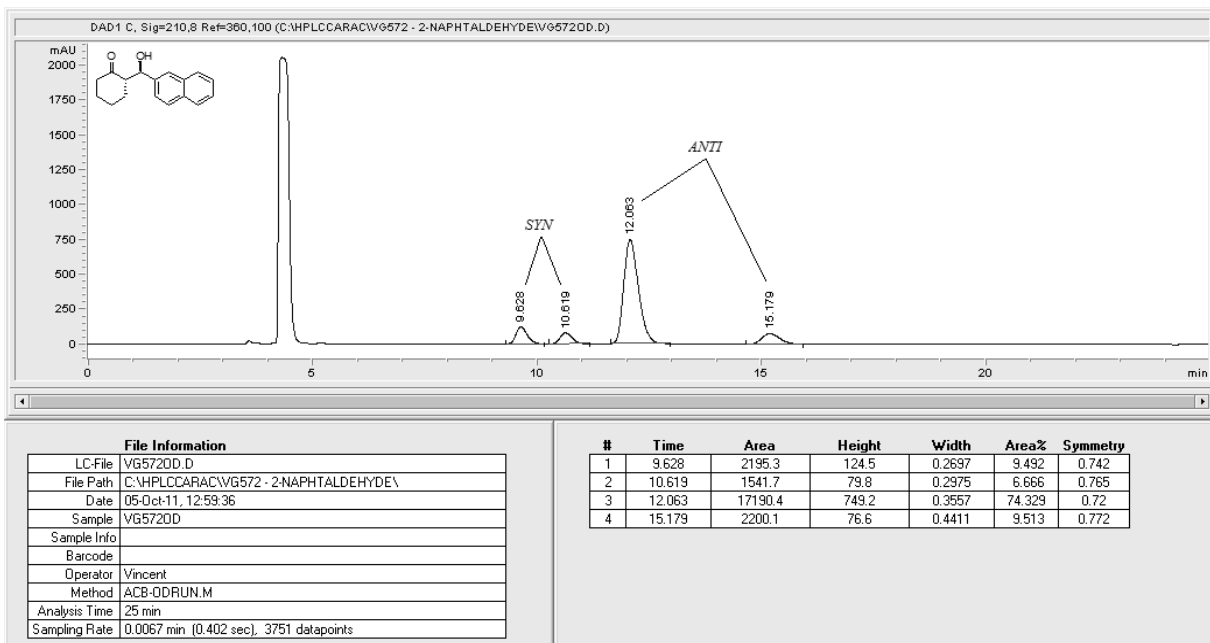
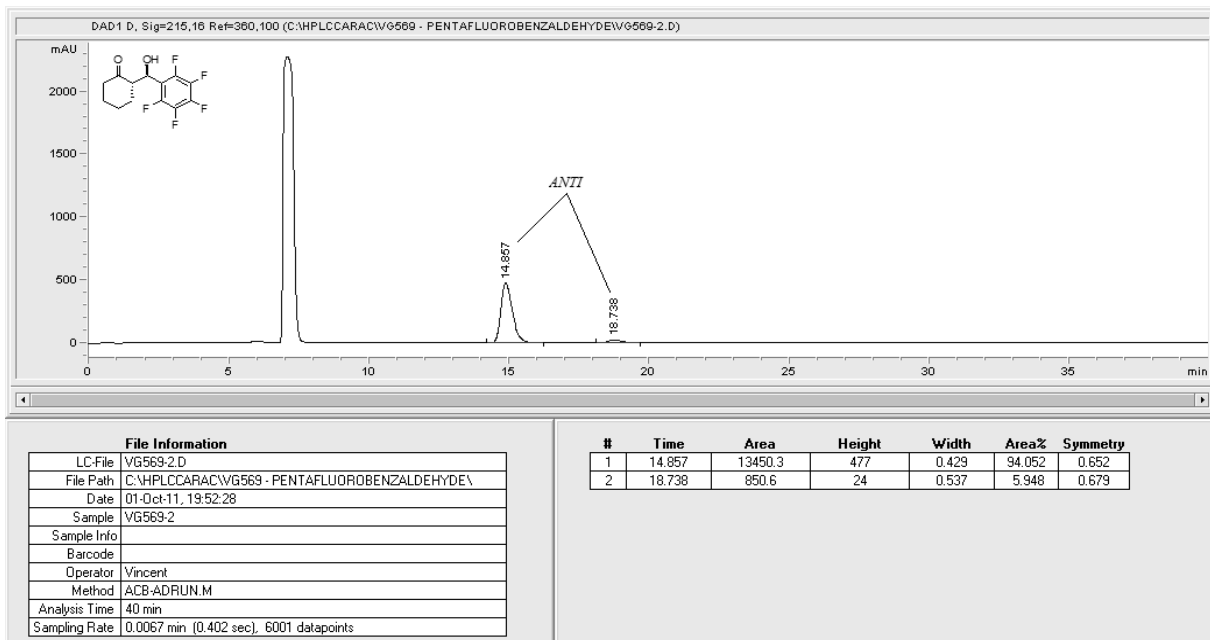
## HPLC Traces

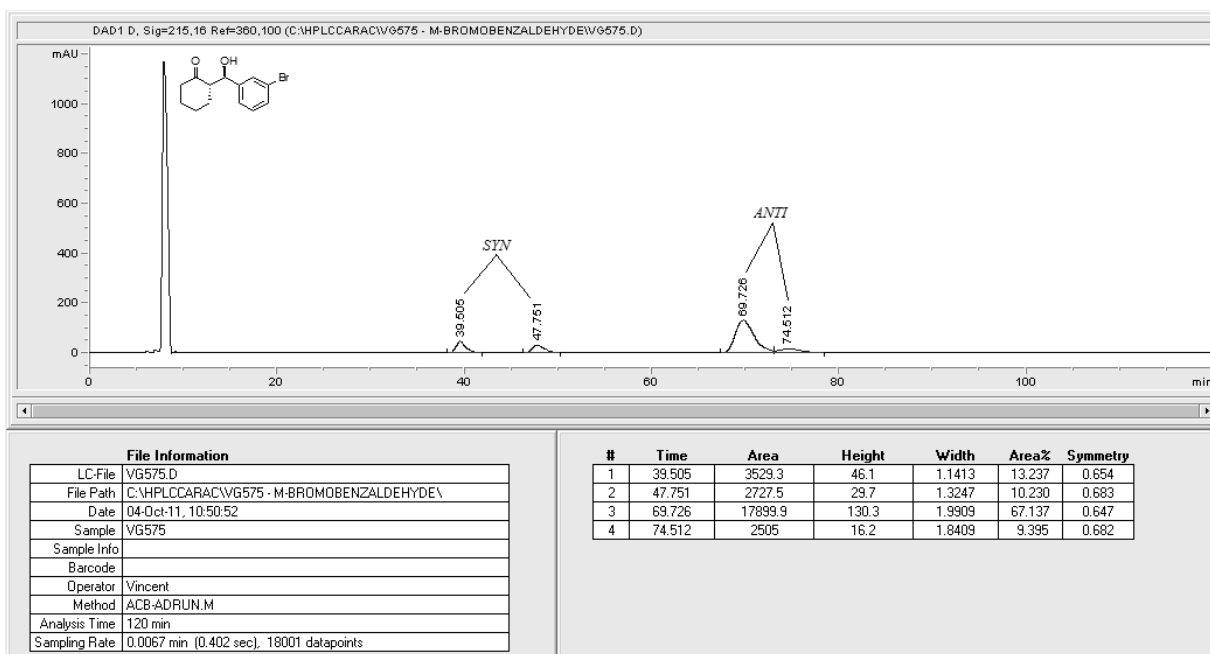
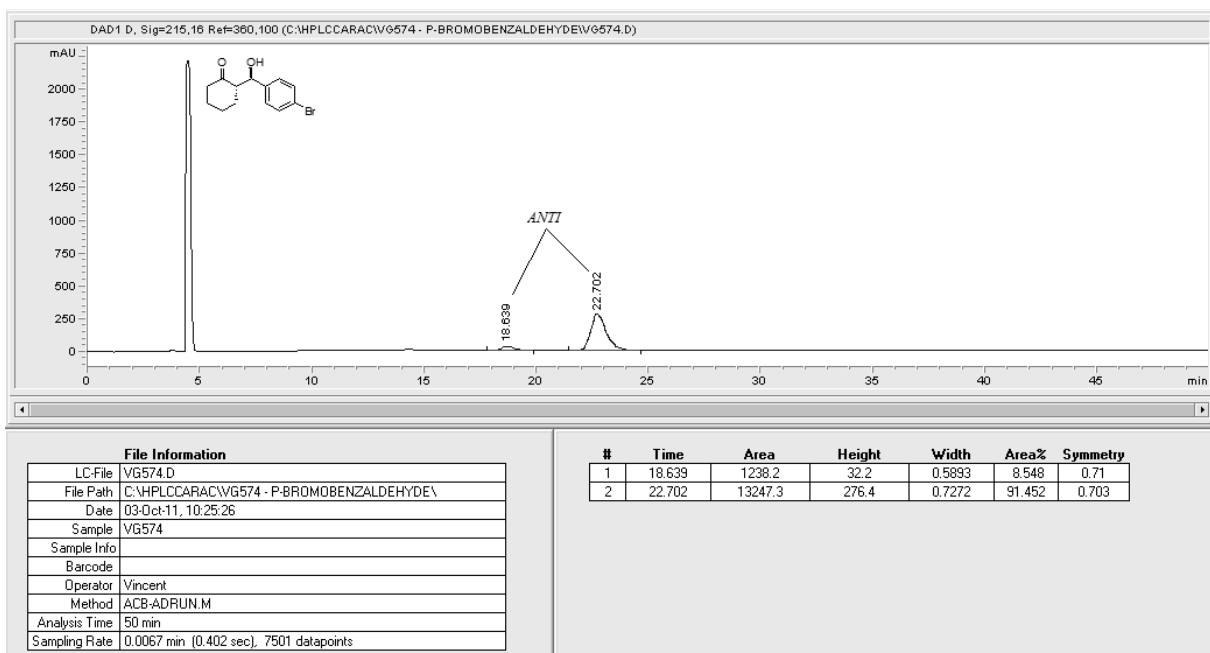




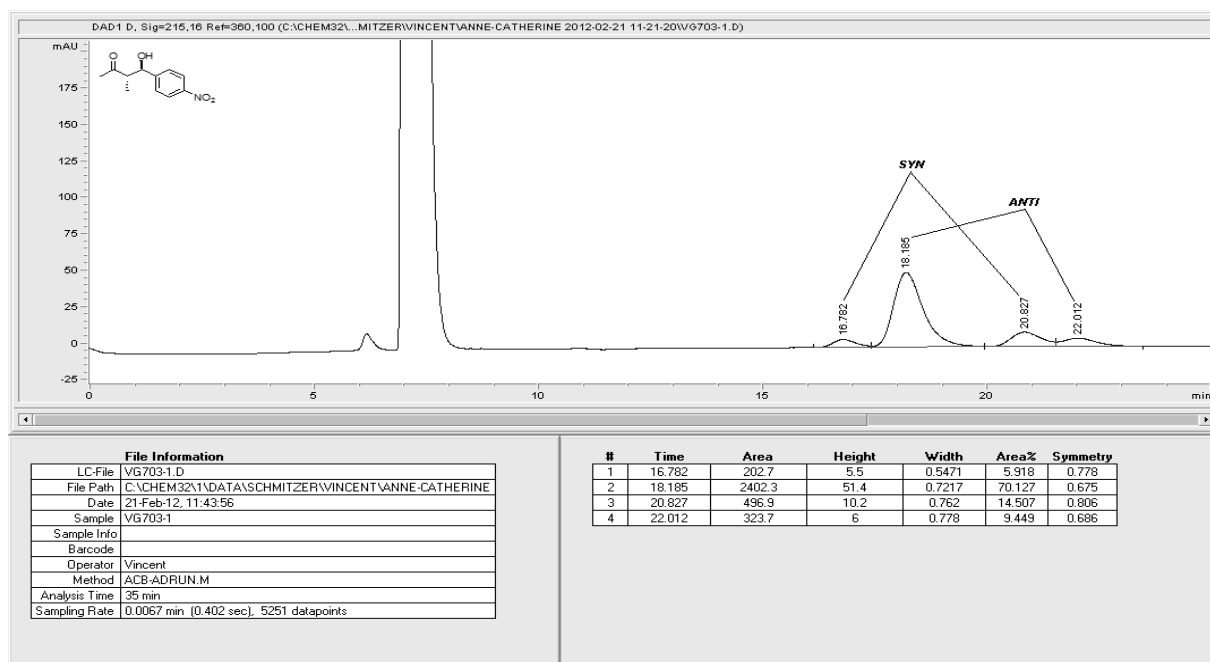
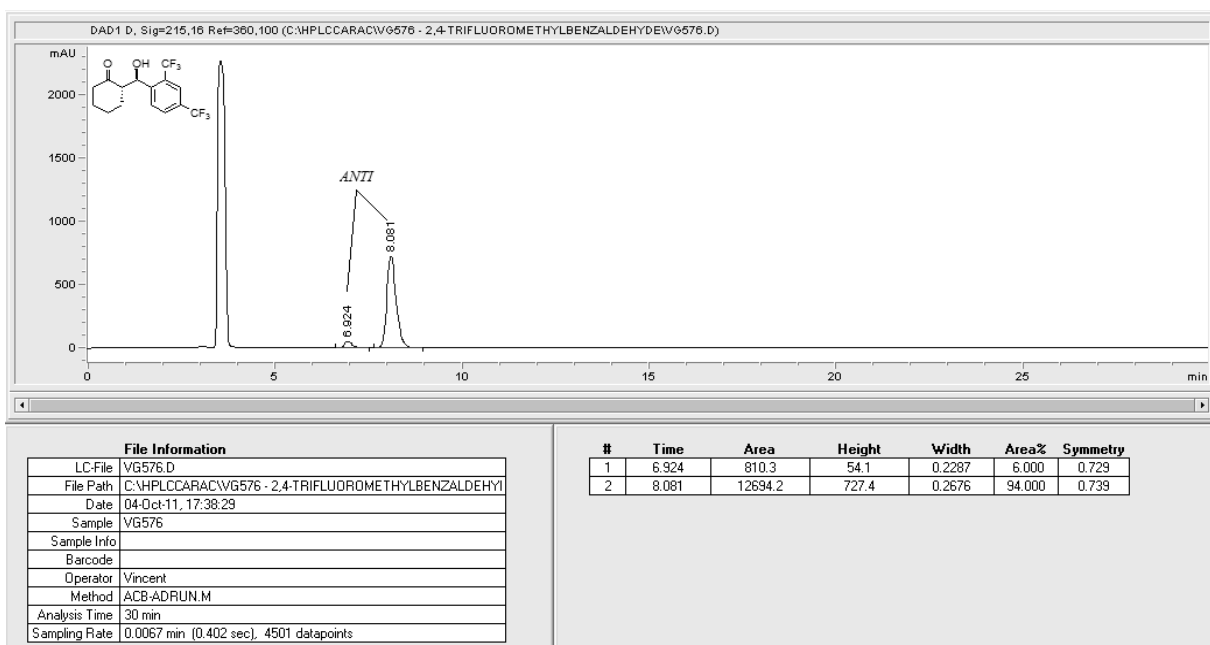






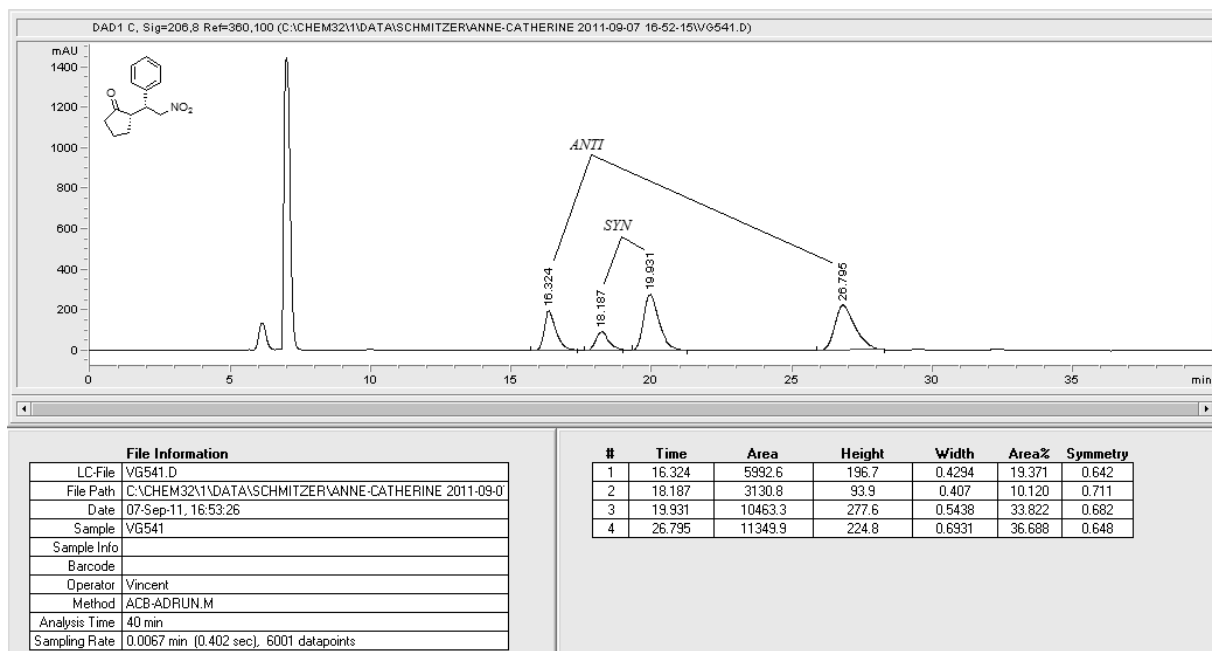
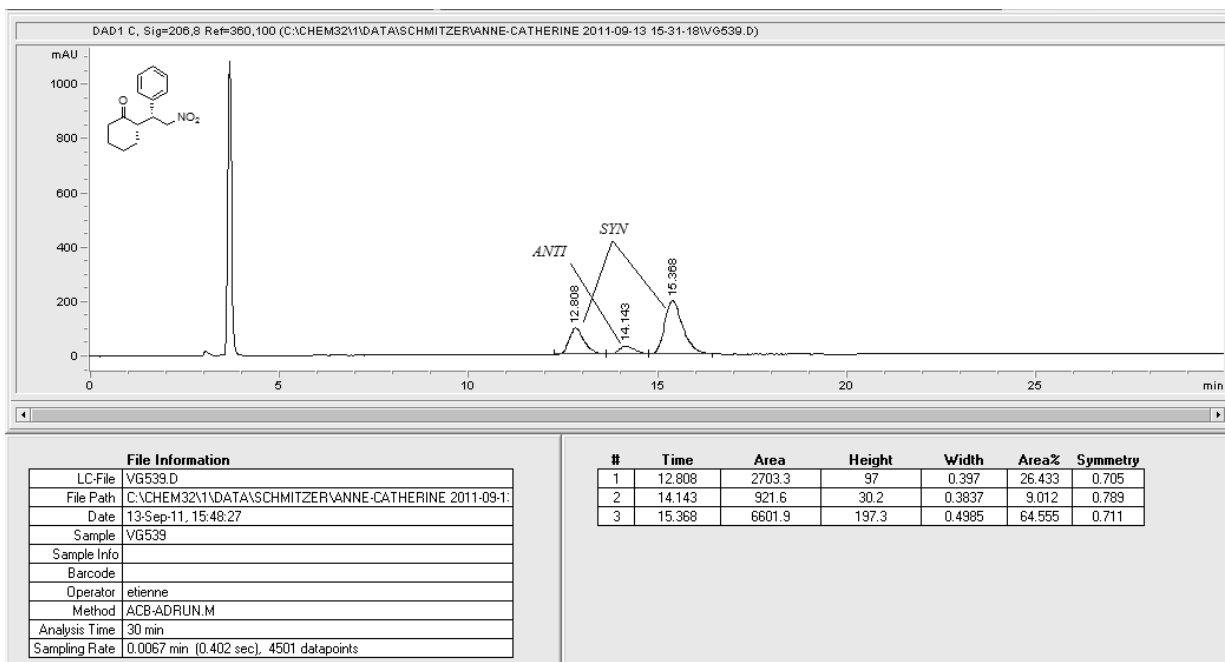


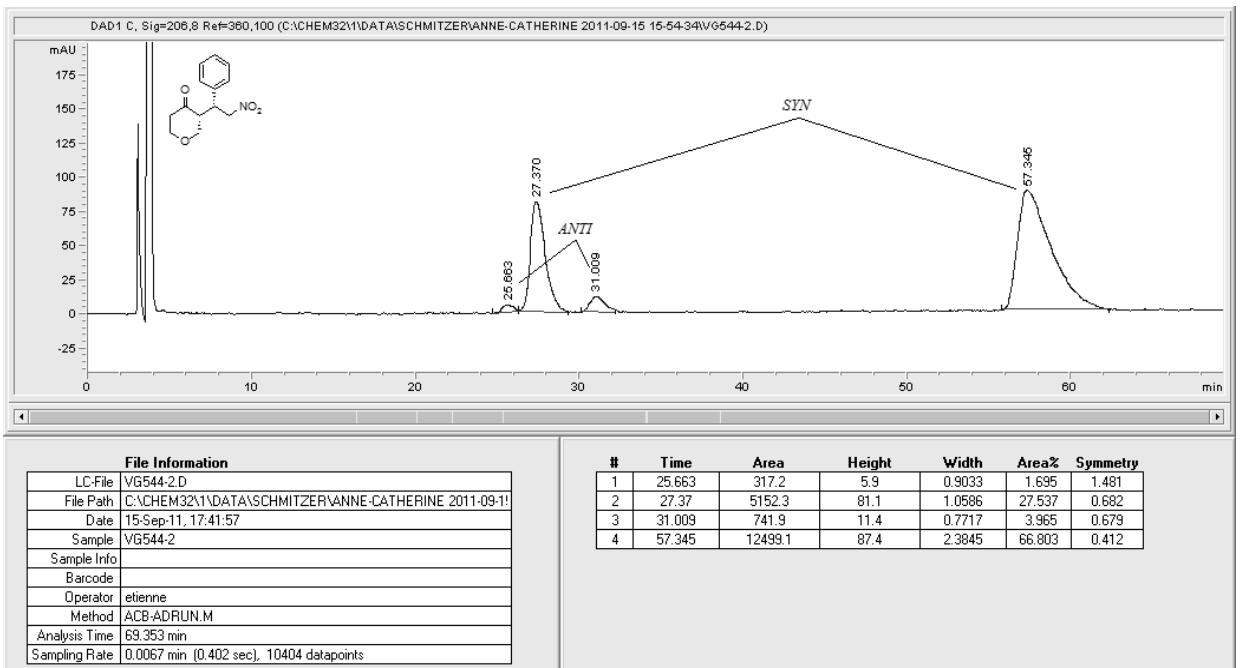
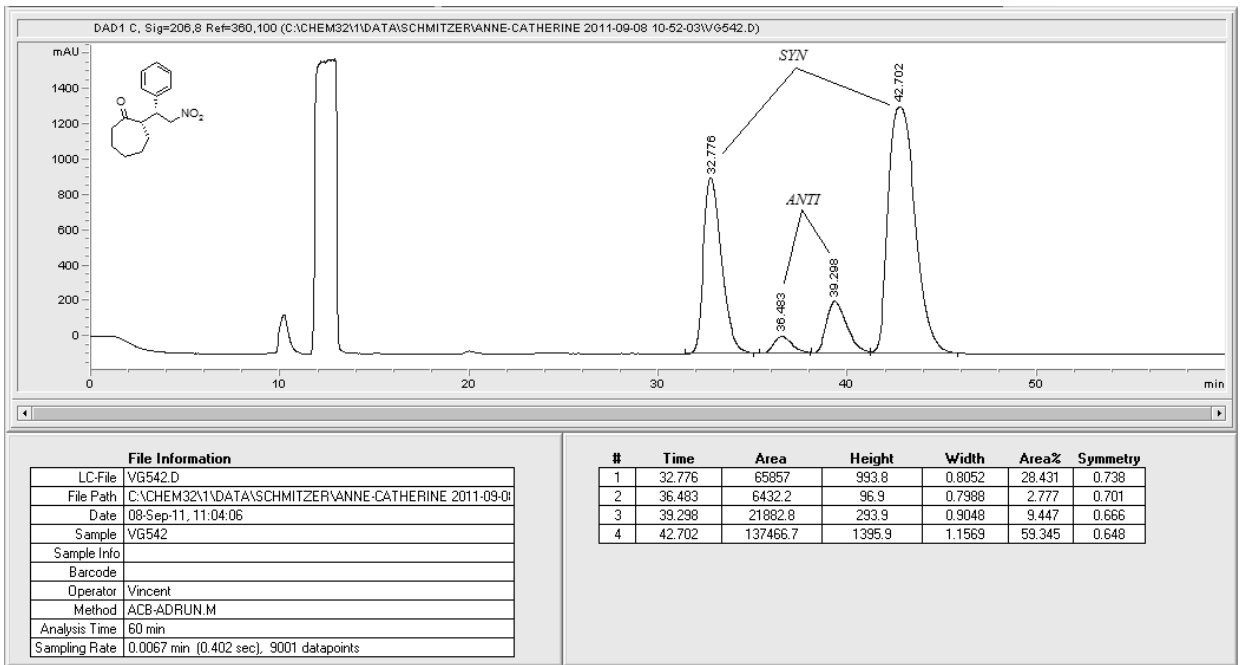


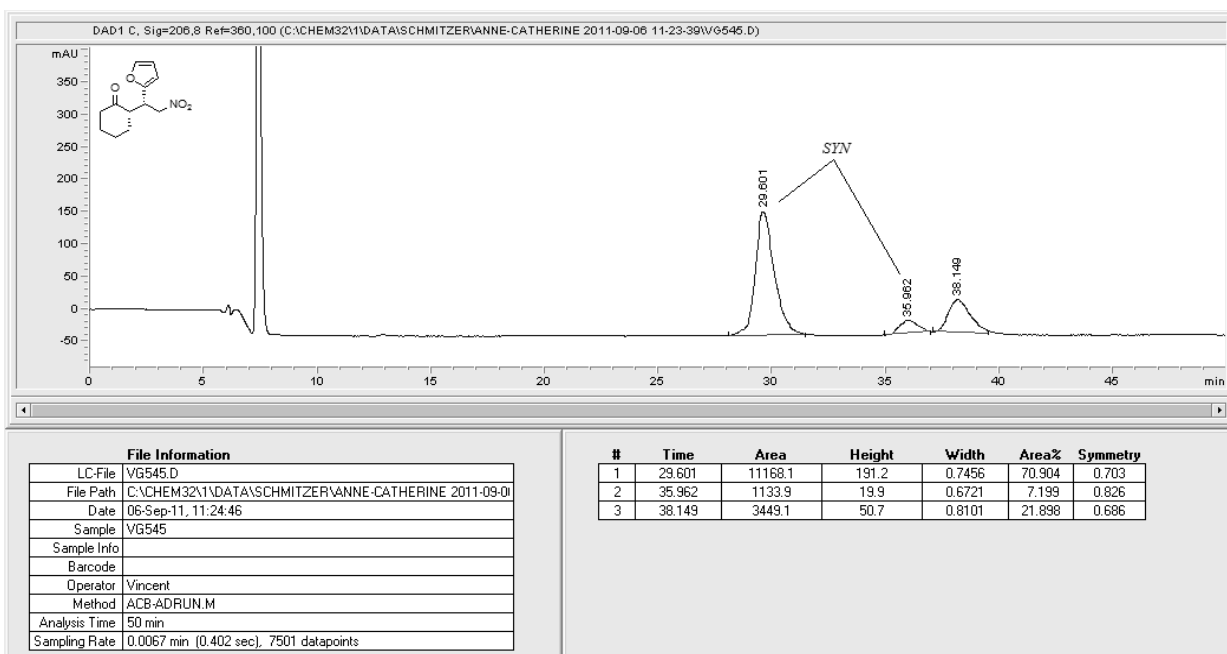
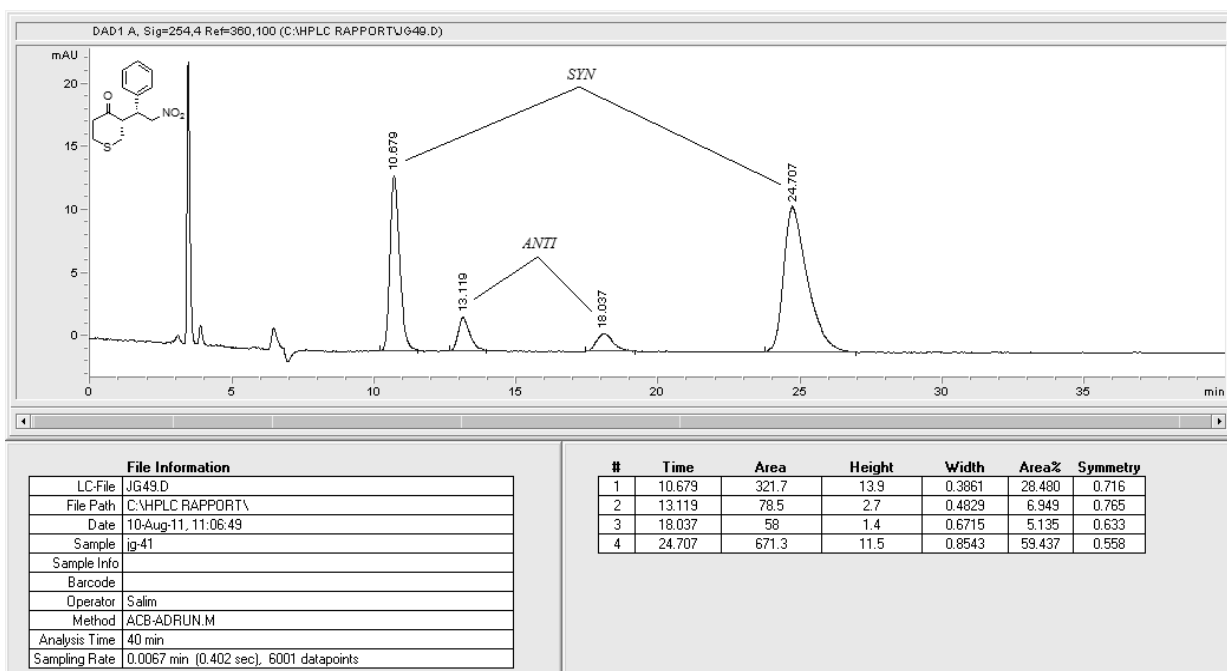


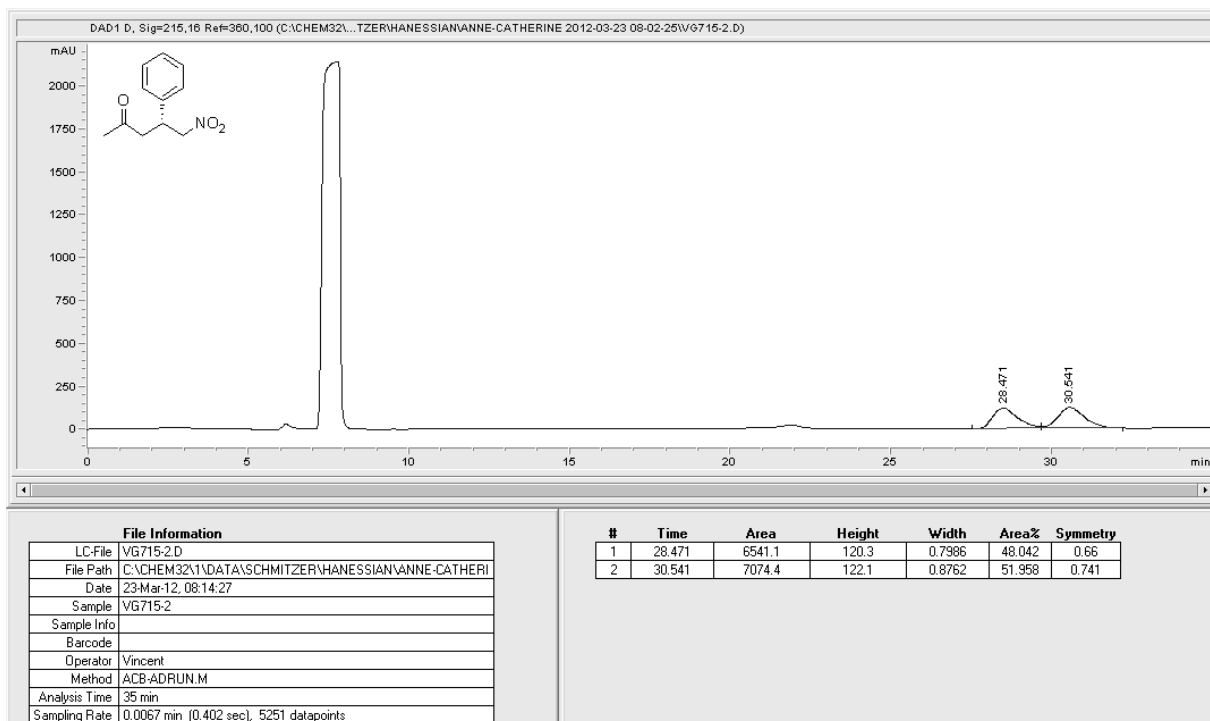
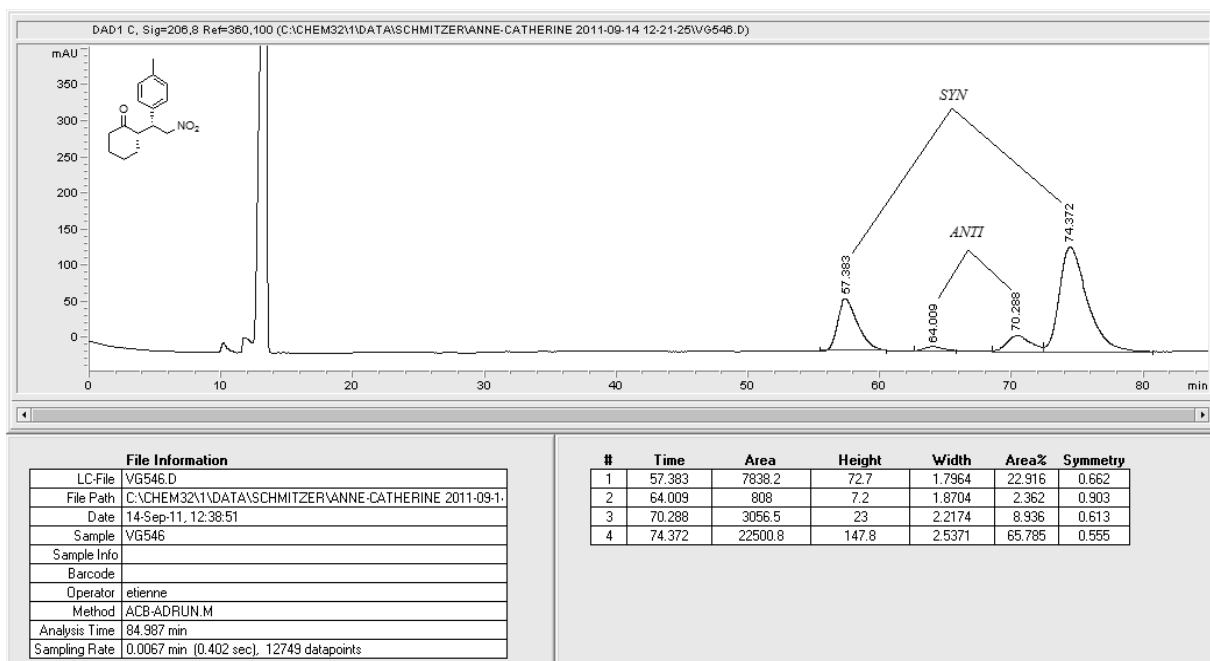
**Annexe 2** : Partie expérimentale de l'article 2 : « Asymmetric Michael addition induced by the anion of an imidazolium salt »

## HPLC Traces





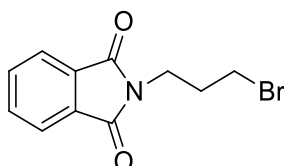




**Annexe 3** : Partie expérimentale de l'article 3 : « Encapsulation of a catalytic imidazolium salt in avidin: towards the development of a new type of bio-hybrid catalyst active in ionic liquids»

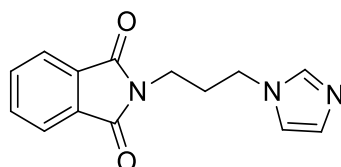
## EXPERIMENTAL PROCEDURES

### *Synthesis of the C<sub>3</sub> catalyst – Compound 1*



#### **Compound 1**

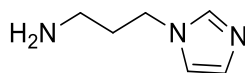
Under nitrogen atmosphere, 1,3-dibromopropane (16.4 ml, 162 mmol) was added to a suspension of potassium phthalimide (10 g, 54 mmol) in dry DMF (20 ml). The mixture was vigorously stirred at room temperature for 24 h. The solvent was evaporated under vacuum and the residue was dissolved in ethyl acetate. The organic phase was washed with water (2 x 30 ml), saturated aqueous ammonium chloride (1 x 30 ml), and brine (1x30ml). The organic phase was then dried over magnesium sulfate and evaporated *in vacuo* to give a pale yellow oil. Trituration with hexanes and filtration of the resulting solid afford compound **1** (12.13 g, 84%) as a white powder. The product was directly used in the next step without further purification. Spectroscopic data were in accordance with literature.<sup>1</sup>



#### **Compound 2**

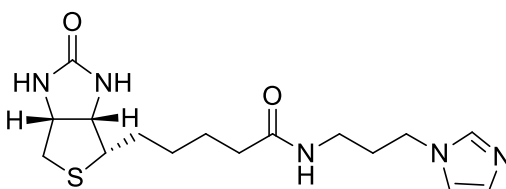
Under nitrogen atmosphere, imidazole (2.346 g, 34.5 mmol) and sodium hydride (34.5 mmol) were dissolved slowly in dry DMF at 0°C. The resulting suspension was stirred at room temperature for 2 h, cooled down to 0°C and cannulated on **1** (9.29g, 34.65 mmol). The solution was stirred at room temperature overnight. The solvent was then evaporated under reduced pressure and purified by flash chromatography (AcOEt/MeOH: 95/5) to afford compound **2** as a white solid (6.37 g, 72%). Spectroscopic data were in accordance with literature.<sup>1</sup>





### Compound 3

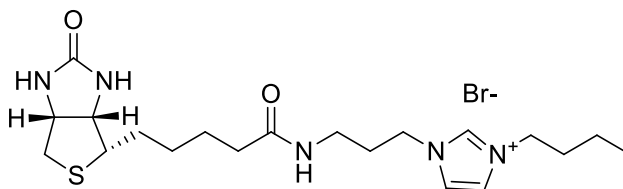
Compound **2** (6.72 g, 29.8 mmol) was dissolved in EtOH/H<sub>2</sub>O (300ml, 3/1) and hydrazine hydrate (3.2 ml, 65.72 mmol) was added and the mixture refluxed overnight. The solution was then cooled to room temperature, concentrated HCl (19.5 ml) was slowly added, and the mixture was stirred on reflux for 6h. The reaction was then cooled to room temperature and filtered. Evaporation of filtrate gave a pale yellow solid which was dissolved in distilled water. The aqueous phase was washed two times with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and then an aqueous solution of NaOH 1M was added until pH reached *ca.* 12. The solution was then washed with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x40 ml) and with ether (1x40 ml), and evaporated under vacuum to afford a yellow solid which was dried under vacuum for 3 h. The solid was suspended in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, stirred at reflux for 30 min and then filtered. This step was repeated two more times, and the combined organic phases were dried over magnesium sulfate and evaporated under vacuum to afford compound **2** (2.12 g, 57 %) as a yellow oil. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ = 7.49 (s, 1 H), 7.06 (s, 1 H), 6.93 (s, 1 H), 4.06 (t, *J*=7.0 Hz, 2 H), 2.72 (t, *J*=6.8 Hz, 2 H), 1.91 (quin, *J*=6.8 Hz, 2 H), 1.31 ppm (br. s., 2 H), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): 137.2, 129.5, 118.8, 44.4, 38.8, 34.3 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub> (M+H<sup>+</sup>): 126.10257; Found 126.10174.



### Compound 4

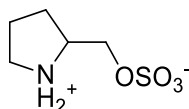
Under nitrogen atmosphere, compound **3** (1.78 g, 14.30 mmol) and triethylamine (5.98 ml, 42.9 mmol) were dissolved in dry DMF (45 ml). (+)-Biotin N-hydroxysuccinimide ester (6.71 g, 15.73 mmol) was then added and the reaction mixture was allowed to stir at room temperature for 48 h. The solvent was removed under vacuum, the residue was dissolved in distilled water and washed with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2x60 ml) and ether (1x60 ml). The aqueous phase was evaporated under vacuum and the yellow residue was purified by flash chromatography on neutral alumina (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH: 95/5 then 8/2) to give compound **4** (4.42 g, 88%) as a pale yellow solid. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 7.81 (br. s., 1 H), 7.23 (br. s., 1 H), 7.05 (br. s., 1 H), 4.51 (dd, *J*=7.6, 4.7 Hz, 1 H), 4.32 (dd, *J*=7.9, 4.4 Hz, 1 H), 4.10 (t, *J*=7.0 Hz, 2 H), 3.12 - 3.27 (m, 3 H), 2.94 (dd, *J*=12.8, 4.9 Hz, 1 H), 2.72 (d, *J*=12.6 Hz, 1 H), 2.15 - 2.28 (m, 2 H), 1.94 - 2.08 (m, 2 H), 1.55 - 1.86 (m, 4 H), 1.47 ppm (q, *J*=7.4 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): 171.7, 162.2, 136.7, 127.2, 119.1, 60.6, 58.7, 54.9, 43.4, 35.1, 34.7, 30.2,

27.7, 27.6, 24.8 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S (M+H<sup>+</sup>): 352.18017; Found 352.17890.



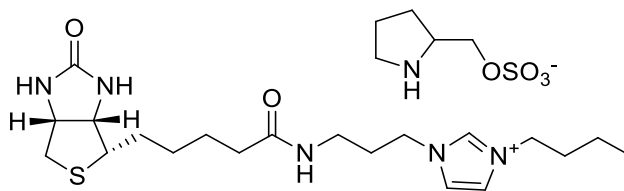
### Compound 5

Compound 4 (500 mg, 1.42 mmol) was suspended in acetonitrile (10 ml) and 1-bromobutane (458.6  $\mu$ l, 4.26 mmol) was added. The reaction mixture was stirred at reflux for 16 h and the solvent was removed in vacuum to afford compound 5 (693 mg, 94%.) as a pale yellow oil. <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz):  $\delta$  = 8.74 (s, 1 H), 7.46 (d, 2 H), 4.54 (dd,  $J$ =7.8, 4.8 Hz, 1 H), 4.35 (dd,  $J$ =7.9, 4.4 Hz, 1 H), 4.16 (dt,  $J$ =14.8, 7.2 Hz, 4 H), 3.24 - 3.31 (m, 1 H), 3.10 - 3.23 (m, 2 H), 2.92 (dd,  $J$ =13.0, 4.9 Hz, 1 H), 2.69 (d,  $J$ =13.0 Hz, 1 H), 2.19 (t,  $J$ =7.2 Hz, 2 H), 2.05 (t,  $J$ =6.9 Hz, 2 H), 1.43 - 1.85 (m, 6 H), 1.15 - 1.42 (m, 5 H), 0.85 ppm (t,  $J$ =7.4 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): 176.5, 164.9, 134.9, 122.2, 121.9, 91.7, 59.9, 55.1, 49.1, 46.7, 39.4, 35.5, 35.1, 30.9, 20.5, 27.6, 27.3, 24.7, 118.4, 12.3 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S (M\*<sup>+</sup>): 408.24277; Found 408.24444.



### Compound 6

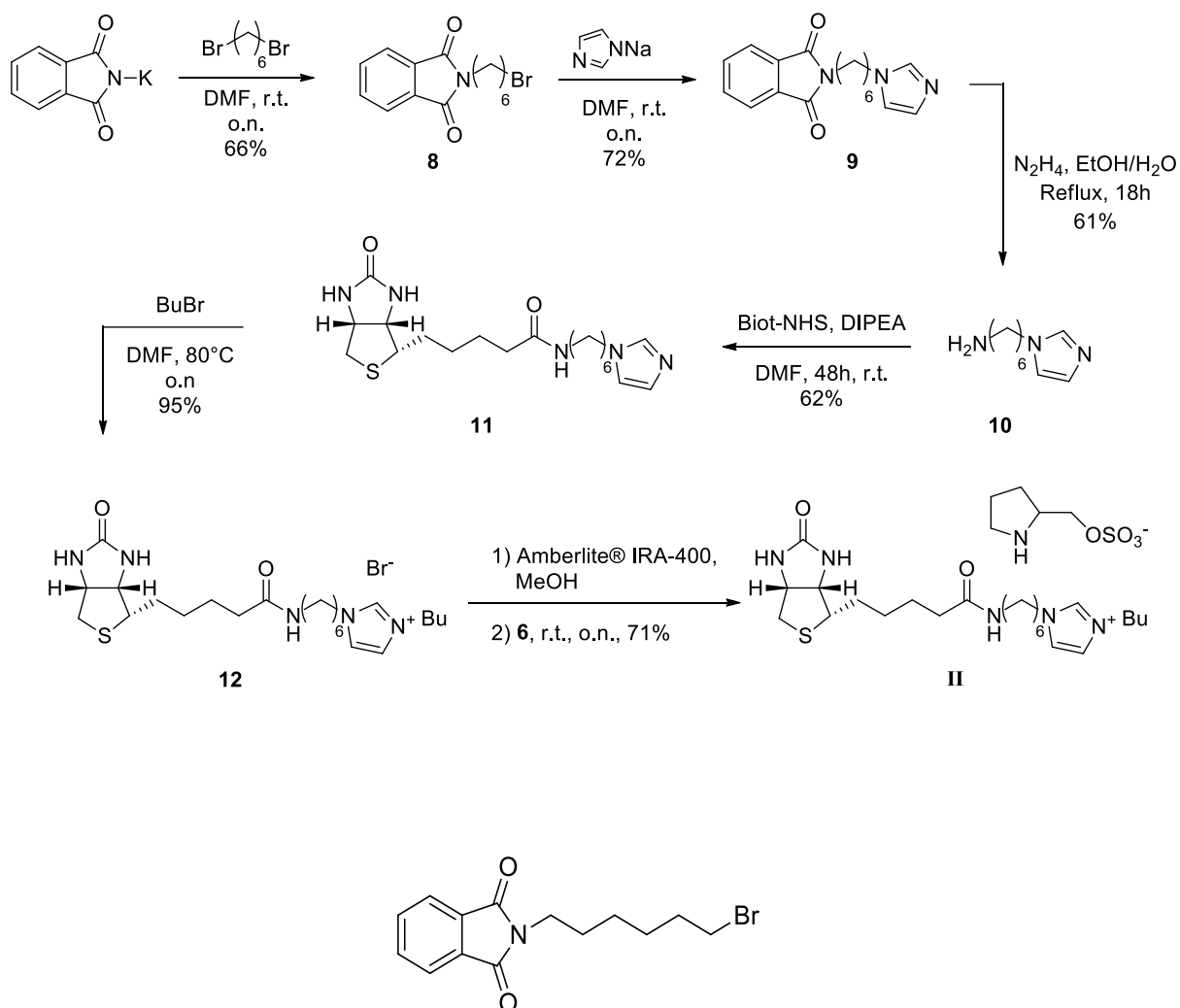
Zwitterion 6 was prepared according to literature.<sup>2</sup> The sulphation step was executed using a modified procedure. Under inert atmosphere, N-Boc-2-(hydroxymethyl)pyrrolidine (2.08 g, 10.03 mmol) was solubilized in dry dichloromethane (20 ml) and cooled to 0°C using an ice bath. Chlorosulfonic acid (666.68  $\mu$ l, 10.03 mmol) was then added dropwise to the solution, leading to the formation of a sticky solid in the reaction vessel. The reaction was allowed to stir 2h at room temperature, and then the solvent was removed under reduced pressure. Trituration and filtration of the residue gave the desired product (1.37 g, 75%) as a white powder. <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz):  $\delta$  = 4.27 (dd,  $J$ =17.7, 3.4 Hz, 1 H), 4.03 - 4.13 (m, 1 H), 3.83 - 3.95 (m, 1 H), 3.22 - 3.34 (m, 2 H), 1.88 - 2.20 (m, 3 H), 1.67 - 1.82 ppm (m, 1 H), <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): 66.5, 58.8, 45.8, 25.7, 23.2 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>4</sub>S (M+H<sup>+</sup>): 182.04816; Found 182.04835.



### Compound I

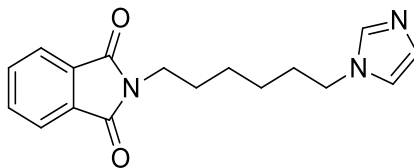
Compound **5** (75 mg, 0.153 mmol) was dissolved in MeOH (3 ml) and passed through a IRA-400 HO form exchange resin (2g). The resin was then washed with MeOH (2x20ml), and zwitterion **6** (29 mg, 0.16 mmol) was added to the reaction vessel. The mixture was stirred overnight at room temperature. The methanol and resulting water were removed under reduced pressure, the residue was dissolved in 1 ml of CH<sub>3</sub>CN/MeOH (95/5) and allowed to cool down at -8°C for 3h. The resulting solid was filtrated, the filtrate was evaporated under reduced pressure and dried under vacuum to give the desired product as a pale yellow oil (70.5 mg, 75%). <sup>1</sup>H NMR (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ = 7.43 (s, 2 H), 4.47 - 4.57 (m, 1 H), 4.27 - 4.42 (m, 1 H), 4.12 (s, 5 H), 3.90 - 4.04 (m, 1 H), 3.54 - 3.70 (m, 1 H), 3.20 - 3.30 (m, 1 H), 3.11 - 3.20 (m, 2 H), 2.98 - 3.10 (m, 2 H), 2.85 - 2.95 (m, 1 H), 2.61 - 2.73 (m, 1 H), 2.12 - 2.21 (m, 2 H), 1.92 - 2.08 (m, 3 H), 1.71 - 1.91 (m, 4 H), 1.13 - 1.69 (m, 9 H), 0.84 ppm (t, *J*=16.0 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): 177.9, 166.2, 123.4, 123.2, 63.0, 61.2, 56.4, 50.3, 47.96, 46.6, 46.5, 40.6, 36.7, 36.3, 32.1, 29.8, 28.9, 28.6, 27.5, 27.4, 25.9, 24.8, 19.7, 13.5. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S (M<sup>+</sup>): 408.24277; Found 408.24344.

## Synthesis of the C<sub>6</sub> catalyst – Compound II



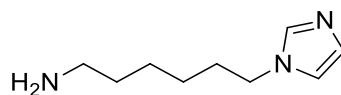
### Compound 8

**8** was prepared on a 5g scale using the procedure for the preparation of compound **1**, using 1,6-dibromohexanes (3eq.) as the alkylating agent. The resulting white powder (5.56 g, 66%) was used without further purification. Spectroscopic data were in accordance to the literature.<sup>1</sup>



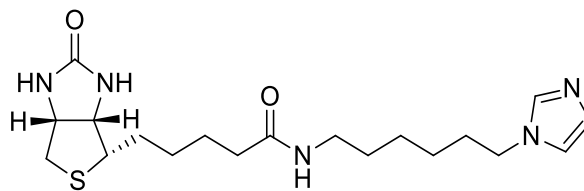
### Compound 9

Compound **9** was prepared using the procedure for the preparation of **2**. The desired product was obtained as a light yellow waxy solid (72%).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.74 - 7.81 (m, 2 H), 7.62 - 7.72 (m, 2 H), 7.41 (s, 1 H), 6.99 (s, 1 H), 6.86 (s, 1 H), 3.88 (t,  $J=7.1$  Hz, 2 H), 3.62 (t,  $J=7.1$  Hz, 2 H), 1.73 (t,  $J=7.0$  Hz, 2 H), 1.53 - 1.67 (m, 2 H), 1.23 - 1.38 ppm (m, 4 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 75 MHz): 167.9, 136.6, 133.5, 131.6, 128.9, 122.7, 118.3, 46.5, 37.3, 30.5, 27.9, 25.8, 25.6 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 298.15500; Found 298.15582.



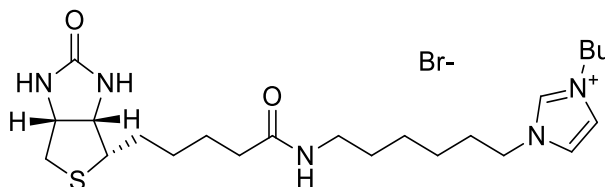
### Compound 10

Compound **10** (1.20 g, 4.03 mmol) was dissolved in  $\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O}$  (300ml, 3:1) and hydrazine hydrate (431.47  $\mu\text{l}$ , 8.87 mmol) was added and the mixture refluxed overnight. The solution was then cooled to room temperature, concentrated  $\text{HCl}$  (2.98 ml) was slowly added, and the mixture was stirred on reflux for 6h. The reaction was allowed to cool down to room temperature and filtered. Evaporation of filtrate gave a pale yellow solid which was dissolved in distilled water. The aqueous phase was washed two times with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  and then an aqueous solution of  $\text{NaOH}$  1M was added until pH reached *ca.* 12. The solution was then extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2x40 ml), the combined phases were dried on magnesium sulfate, filtrated and evaporated *in vacuo* to afford the desired product as a pale yellow oil (408.3 mg, 61%).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.46 (s, 1 H), 7.06 (s, 1 H), 6.90 (s, 1 H), 3.93 (t,  $J=7.0$  Hz, 2 H), 2.58 - 2.71 (m, 2 H), 1.79 (quin,  $J=7.2$  Hz, 2 H), 1.24 - 1.51 (m, 6 H), 1.17 ppm (br. s., 3 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 136.7, 129.1, 118.4, 46.6, 41.7, 33.2, 30.7, 26.1, 26.0 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_3$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 168.08452; Found 168.08414.



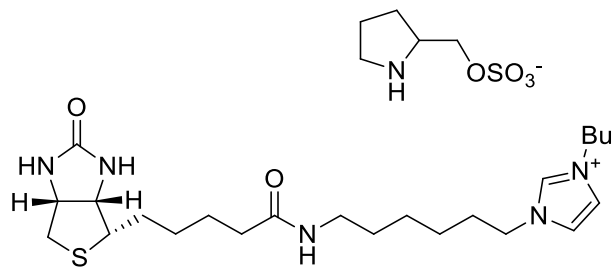
### Compound 11

Compound **1** was prepared using the procedure for the preparation of **4**. The desired product was obtained as a white foam (62%).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.62 (s, 1 H), 7.08 (s, 1 H), 6.94 (s, 1 H), 4.49 (dd,  $J=8.0, 4.8$  Hz, 1 H), 4.32 (dd,  $J=7.9, 4.5$  Hz, 1 H), 3.94 (t,  $J=7.9$  Hz, 2H), 3.21 (qt,  $J=5.3$  Hz, 1H), 3.07 (oct,  $J=6.7$  Hz, 2H), 2.86 (dd,  $J=13.1, 5.0$  Hz, 1H), 2.66 (d,  $J=13$  Hz, 1H), 2.15 (t,  $J=7.0$  Hz, 2H), 1.15 – 1.73 ppm (m, 14H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 100 MHz): 176.5, 165.2, 137.7, 127.2, 120.19, 62.0, 60.2, 55.4, 46.9, 39.6, 39.1, 35.5, 29.9, 28.1, 27.8, 27.7, 25.6, 25.3, 25.2 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 394.22712; Found 394.22695.



### Compound 12

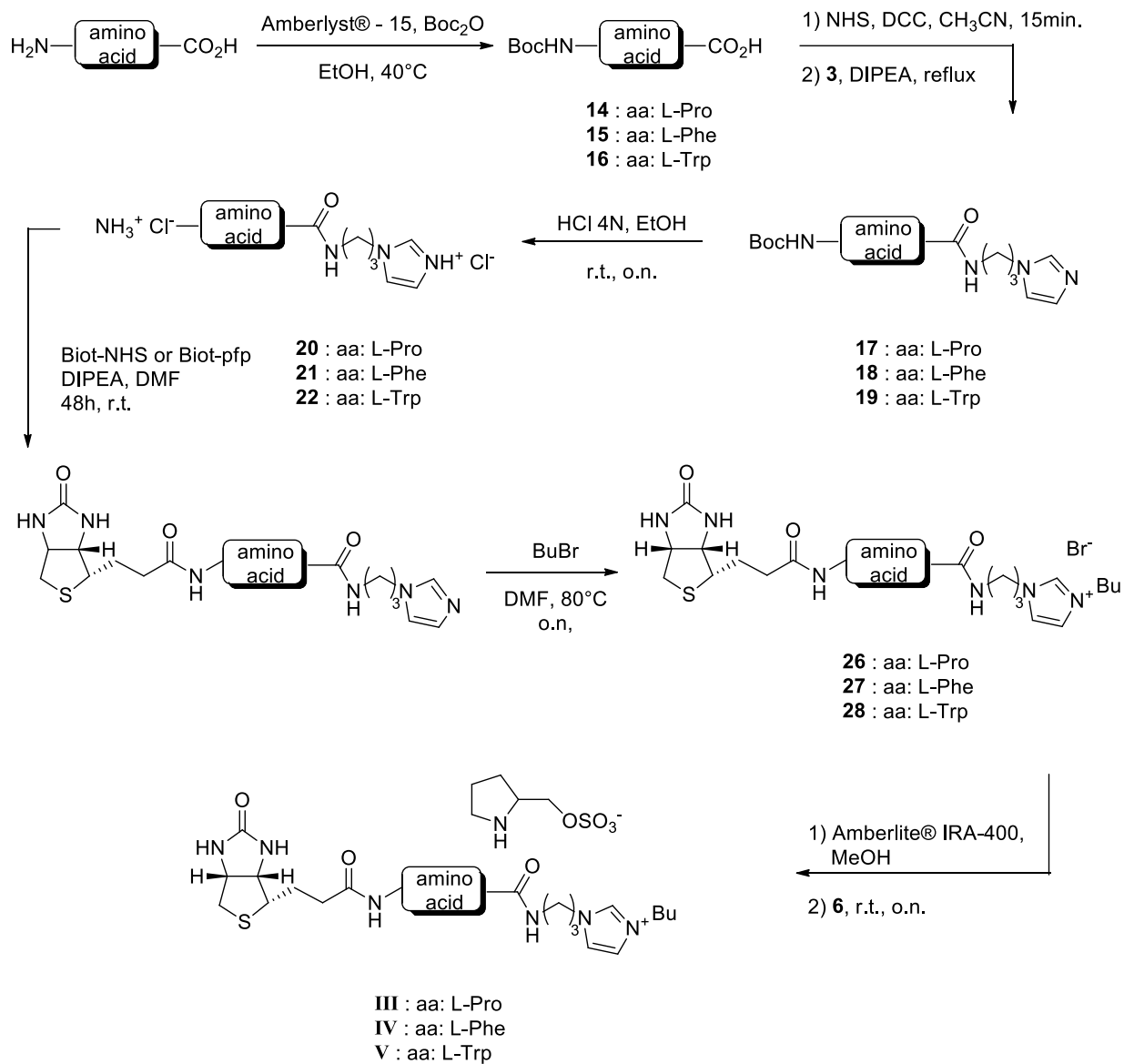
In a vial, compound **11** (70 mg, 0.18 mmol) was dissolved in DMF. Bromobutane (57.44  $\mu\text{l}$ , 0.53 mmol) was added and the reaction mixture was heated up to  $80^\circ\text{C}$  overnight. The solvent was removed under reduced pressure, and the resulting oil was dried *in vacuo* for two days to give product **12** (90.21 mg, 95%) as a yellow foam.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 9.10 (s, 1 H), 7.69 (s, 2 H), 4.48 - 4.58 (m, 1 H), 4.26 (td,  $J=7.3, 2.3$  Hz, 5 H), 3.19 (t,  $J=7.0$  Hz, 3 H), 2.90 - 3.01 (m, 1 H), 2.64 - 2.81 (m, 3 H), 2.15 - 2.30 (m, 2 H), 1.92 (d,  $J=7.5$  Hz, 4 H), 1.25 - 1.82 (m, 16 H), 1.01 ppm (t,  $J=7.4$  Hz, 3 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz): 176.5, 165.3, 137.7, 127.2, 120.2, 62.0, 60.2, 55.4, 46.9, 39.6, 39.1, 35.5, 29.9, 28.1, 27.8, 27.7, 25.6, 25.3, 25.2 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$  ( $\text{M}^{*+}$ ): 450.28972; Found 450.28984.



## Compound II

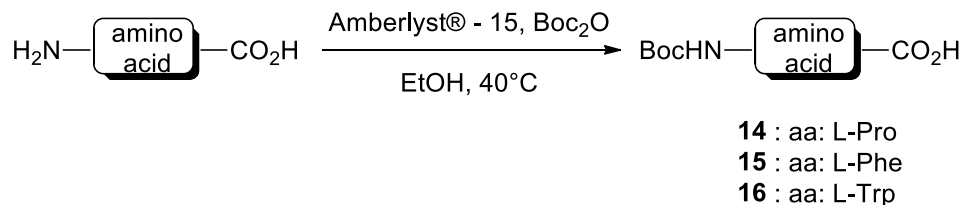
Compound **13** was prepared using the procedure for the preparation of **I**. The desired product was obtained as a yellow foam (71%).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.68 (s, 2 H), 4.48 - 4.55 (m, 1 H), 4.29 - 4.37 (m, 1 H), 4.25 (d,  $J=2.2$  Hz, 4 H), 4.06 - 4.13 (m, 1 H), 3.97 - 4.03 (m, 1 H), 3.49 - 3.58 (m, 1 H), 2.88 - 3.27 (m, 6 H), 2.68 - 2.75 (m, 1 H), 2.15 - 2.26 (m, 2 H), 1.28 - 2.06 (m, 25 H), 1.01 ppm (d,  $J=2.0$  Hz, 3 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$  100 MHz): 174.5, 164.5, 122.2, 68.1, 61.8, 60.1, 57.7, 55.5, 49.2, 49.1, 45.3, 39.5, 38.5, 35.3, 31.5, 29.5, 28.6, 28.3, 27.9, 26.7, 25.7, 25.4, 25.3, 24.1, 18.9, 12.2 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$  ( $\text{M}^{*+}$ ): 450.28972; Found 450.29133.

## Synthesis of the amino acids spaced catalysts (Compound III-V)

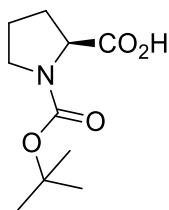




**Representative procedure for the synthesis of *N*-Boc protected amino acids.**

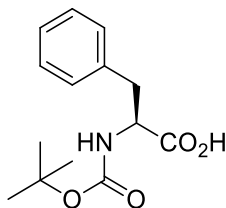


Compounds **14-16** were prepared as described in the literature:<sup>1</sup> Di-*tert*-butyl dicarbonate (2.5 eq.) and Amberlyst-15 resin (7% w/w) were suspended in EtOH ( $V_{\text{EtOH}}=n_{\text{amino acid}}$ ) and the mixture was warmed at 45°C. Amino acid (2g) was added and the mixture was stirred at 45°C until completion. The resin was filtrated and the filtrate was evaporated *in vacuo*. Hexanes were added to the residue and the solution was allowed to stir at room temperature for 20 min. Filtration of the resulting solid afforded the desired products, which were directly used in the next step.



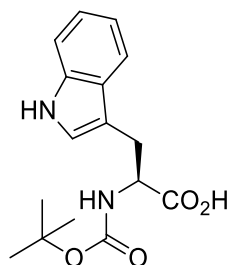
**Compound 14**

Obtained as a white powder in 87% yield. Spectroscopic data were in accordance with the literature.<sup>1</sup>



**Compound 15**

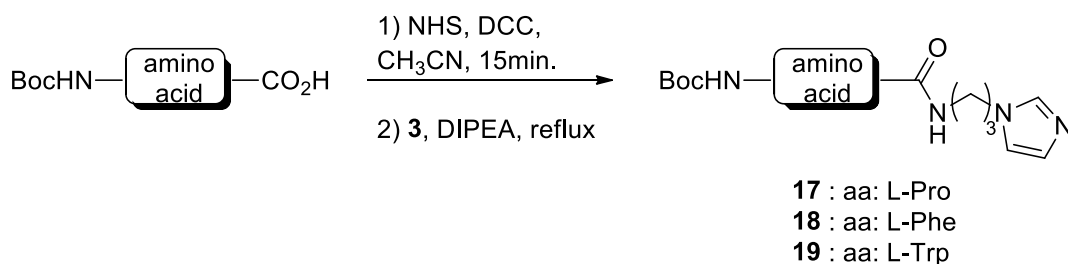
Precipitation with hexanes was induced by cooling the reaction vessel at -8°C, and filtration was done rapidly, to prevent loss of the desired product. Obtained as a pale yellow oil, in 62% yield. Spectroscopic data were in accordance with the literature.<sup>1</sup>



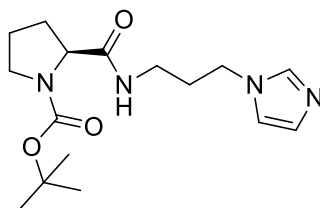
### Compound 16

Obtained as a pale yellow powder in 73% yield. Spectroscopic data were in accordance with the literature.<sup>1</sup>

### *Representative procedure for the synthesis of compounds 17-19*

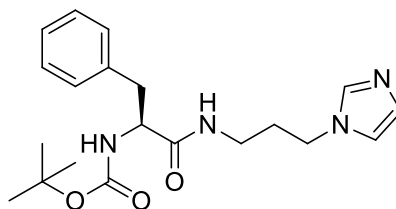


Under nitrogen atmosphere, N-Boc protected amino acid (1eq) and N-hydroxysuccinimide (1eq) were dissolved in dry acetonitrile ( $V_{\text{CH}_3\text{CN}} = 5 \times n_{\text{N-Boc amino acid}}$ ). Dicyclohexylcarbodiimide was added, and the reaction was allowed to stir 15 minutes at room temperature, resulting in the formation of insoluble dicyclohexylurea. Diisopropylethylamine (3 eq.) and compound **3** were added and the mixture was stirred at reflux overnight. The reaction vessel was then cooled to room temperature, DCU removed by filtration and the filtrate was evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in dichloromethane, and washed with water. The organic phase was dried on magnesium sulfate, filtered and evaporated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (DCM/MeOH: 98/2 then 95/5) to afford the desired product.



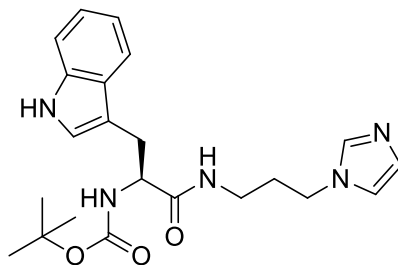
### Compound 17

White foam, 51%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.52 (s, 1 H), 7.07 (br. s., 2 H), 6.96 (s, 1 H), 4.14 - 4.33 (m, 1 H), 4.00 (t,  $J=7.0$  Hz, 2 H), 3.23 (s, 4 H), 1.71 - 2.44 (m, 7 H), 1.48 ppm (br. s., 9 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 172.9, 155.6, 137.0, 129.3, 118.76, 80.2, 77.2, 61.0, 59.9, 47.1, 44.0, 36.1, 31.1, 28.2, 24.4, 23.6 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_3$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 323.20777; Found 323.20658.



### Compound 18

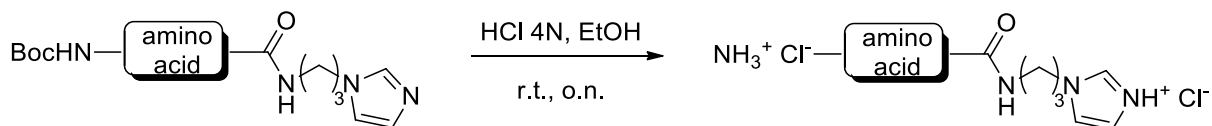
White foam, 59%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.35 - 7.52 (m, 1 H), 6.81 - 7.14 (m, 2 H), 6.29 - 6.59 (m, 1 H), 5.09 - 5.31 (m, 1 H), 4.22 - 4.40 (m, 1 H), 3.70 - 3.90 (m, 2 H), 3.09 - 3.28 (m, 2 H), 2.94 - 3.09 (m, 2 H), 1.77 - 1.93 (m, 2 H), 1.41 ppm (s, 9 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 171.8, 156.1, 155.4, 136.9, 136.8, 129.2, 128.8, 128.3, 126.6, 118.8, 79.7, 55.8, 44.0, 38.7, 36.0, 30.6, 28.6, 28.1 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_3$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 373.22342; Found 373.222248.



### Compound 19

Pale yellow foam, 97%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  = 9.75 (br. s, 1 H), 7.60 (d,  $J=7.7$  Hz, 1 H), 7.28 – 7.33 (m, 2 H), 7.11 (t,  $J=7.6$  Hz, 1 H), 7.02 – 7.06 (m, 2 H), 6.89 – 6.93 (m, 2 H), 6.75 (br. s, 1 H), 5.58 (d,  $J=7.8$  Hz, 1 H), 4.46 – 4.48 (m, 1 H), 3.48 – 3.53 (m, 2 H), 3.05 – 3.32 (m, 3 H), 2.93 (br. s, 1 H), 1.56 – 1.66 (m, 2 H), 1.42 (br. s, 9 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz): 172.4, 155.5, 136.8, 136.3, 127.9, 127.3, 123.5, 141.7, 119.2, 118.9, 118.6, 111.4, 109.9, 79.8, 55.4, 43.9, 35.9, 30.2, 28.2 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_3$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 412.23432; Found 412.23455.

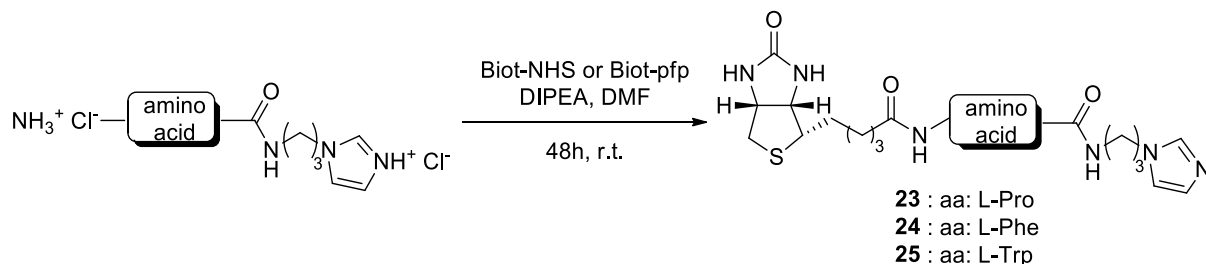
### Representative procedure for the synthesis of compounds 20-22



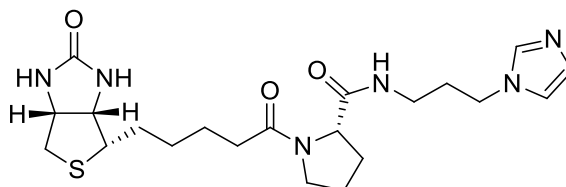
**20** : aa: L-Pro  
**21** : aa: L-Phe  
**22** : aa: L-Trp

The corresponding N-Boc protected compounds were dissolved in EtOH ( $V_{\text{EtOH}}=3 \cdot n_{\text{compound}}$ ) and 4N HCl (20 eq.) was added slowly to mixture. The reaction was allowed to stir overnight at room temperature. After evaporation of the solvents, the residues were dried *in vacuo* overnight to give corresponding compounds **20-22**, which were directly used in the next step, without further purification.

### Representative procedure for the synthesis of compounds 23-25

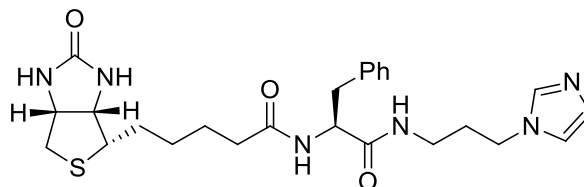


Under nitrogen atmosphere, the corresponding chloride salt and DIPEA were dissolved in dry DMF. (+)-Biotin N-hydroxysuccinimide ester ((+)-Biotin pentafluorophenyl ester was used for the synthesis of **23**) was added and the reaction was stirred 48h at 70°C. The solvent was removed under reduced pressure. Purification of the residue by flash chromatography on neutral alumina (DCM/MeOH : 98/2 then 8/2) yielded the corresponding products.



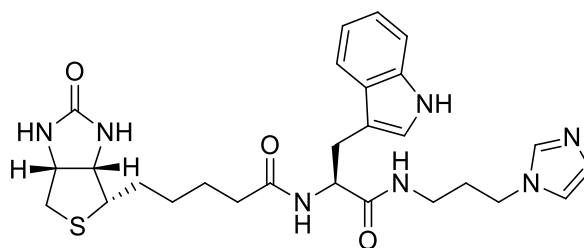
### Compound 23

White foam, 57%. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) (Mixture of rotamers): δ = 7.71 - 7.99 (m, 1 H), 7.14 - 7.40 (m, 1 H), 6.83 - 7.14 (m, 1 H), 4.46 - 4.55 (m, 1 H), 4.24 - 4.46 (m, 2 H), 4.10 (d, *J*=6.8 Hz, 2 H), 3.49 - 3.76 (m, 2 H), 3.08 - 3.40 (m, 3 H), 2.85 - 2.98 (m, 1 H), 2.71 (d, *J*=12.6 Hz, 1 H), 1.99 (dd, *J*=11.7, 5.3 Hz, 8 H), 1.30 - 1.83 ppm (m, 6 H), <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz) (Mixture of rotamers): 173.4, 173.1, 172.8, 172.8, 164.4, 61.6, 61.5, 60.4, 60.0, 59.9, 55.2, 46.3, 43.6, 39.3, 36.0, 35.3, 33.2, 31.5, 30.3, 30.3, 39.2, 28.2, 28.0, 27.8, 27.7, 24.1, 24.1, 23.9, 21.9 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S (M+H<sup>+</sup>): 449.23294 ; Found 449.23410.



### Compound 24

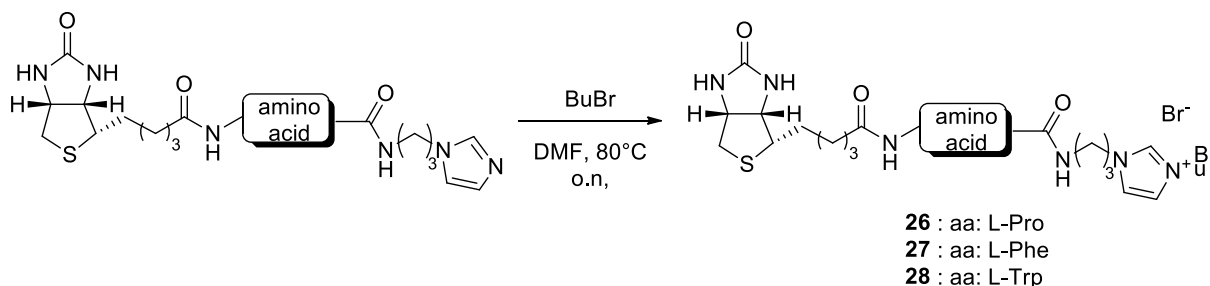
Pale yellow foam, 35%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.56 - 7.74 (m, 1 H), 7.18 - 7.37 (m, 5 H), 7.07 - 7.16 (m, 1 H), 6.92 - 7.06 (m, 1 H), 4.45 - 4.62 (m, 2 H), 4.23 - 4.33 (m, 1 H), 3.84 - 3.93 (m, 2 H), 3.03 - 3.23 (m, 4 H), 2.86 - 3.02 (m, 2 H), 2.66 - 2.76 (m, 1 H), 2.15 - 2.34 (m, 2 H), 1.81 - 1.94 (m, 2 H), 1.43 - 1.79 (m, 4 H), 1.25 - 1.43 ppm (m, 2 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz): 174.2, 172.1, 164.4, 136.7, 128.6, 127.7, 127.3, 126.1, 119.0, 61.4, 59.9, 55.1, 54.7, 43.5, 39.2, 37.2, 35.4, 34.5, 30.0, 27.6, 27.5, 27.9 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 499.24859 ; Found 499,25109.



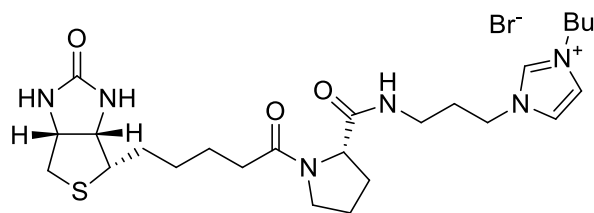
### Compound 25

Deep yellow foam, 67%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.60 - 7.68 (m, 1 H), 7.46 - 7.56 (m, 1 H), 7.29 - 7.38 (m, 1 H), 7.16 (s, 1 H), 6.89 - 7.14 (m, 4 H), 4.60 - 4.70 (m, 1 H), 4.41 - 4.52 (m, 1 H), 4.12 - 4.23 (m, 1 H), 3.59 - 3.78 (m, 2 H), 3.21 - 3.31 (m, 1 H), 2.96 - 3.20 (m, 4 H), 2.83 - 2.94 (m, 1 H), 2.64 - 2.75 (m, 1 H), 2.17 - 2.35 (m, 2 H), 1.45 - 1.84 (m, 6 H), 1.19 - 1.43 ppm (m, 2 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz): 174.1, 172.6, 164.3, 136.2, 127.0, 122.9, 120.7, 118.1, 117.5, 110.6, 109.3, 61.3, 59.8, 55.1, 54.2, 43.3, 39.3, 35.4, 34.6, 29.8, 27.5, 27.4, 27.3, 24.9 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_7\text{O}_3\text{S}$  ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 538.25949; Found 538.26165.

**Representative procedure for the synthesis of bromide salts 26-28**

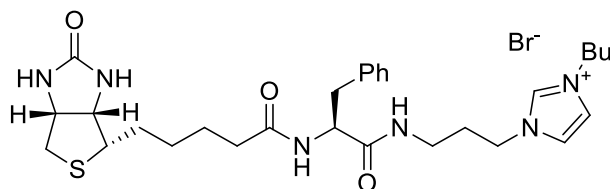


Compounds **26-28** were synthesized following the procedure for the preparation of **12**.



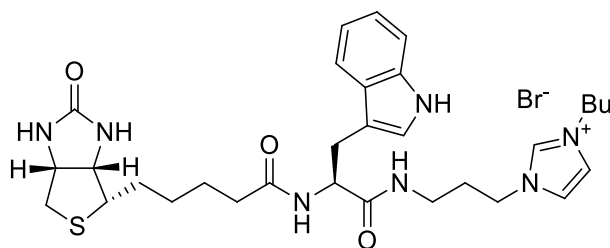
**Compound 26**

Yellow foam, 87%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 9.08 (s, 1 H), 7.72 (d,  $J=16.8$  Hz, 2 H), 4.48 - 4.61 (m, 1 H), 4.13 - 4.41 (m, 6 H), 3.70 - 3.82 (m, 1 H), 3.66 (br. s., 1 H), 3.12 - 3.36 (m, 3 H), 2.94 (d,  $J=4.9$  Hz, 1 H), 2.40 - 2.57 (m, 2 H), 1.84 - 2.40 (m, 8 H), 1.29 - 1.84 (m, 9 H), 1.02 ppm (t,  $J=7.3$  Hz, 3 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz): 173.9, 173.2, 136.2, 122.3, 122.3, 61.8, 60.5, 60.2, 55.6, 49.2, 46.3, 39.6, 34.6, 33.9, 33.5, 31.6, 29.6, 29.5, 28.3, 28.1, 24.4, 24.2, 19.0, 12.3 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$  ( $\text{M}^{*+}$ ): 505.29554; Found 505.29558.



### Compound 27

Yellow foam, 92%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 9.05 (s, 1 H), 7.62 - 7.71 (m, 2 H), 7.14 - 7.35 (m, 5 H), 4.46 - 4.58 (m, 2 H), 4.22 - 4.38 (m, 3 H), 4.03 - 4.22 (m, 2 H), 3.06 - 3.29 (m, 4 H), 2.85 - 3.05 (m, 2 H), 2.63 - 2.77 (m, 3 H), 2.26 (t,  $J=7.2$  Hz, 2 H), 2.04 (dd,  $J=6.0, 3.7$  Hz, 2 H), 1.92 (t,  $J=7.4$  Hz, 2 H), 1.64 - 1.80 (m, 1 H), 1.22 - 1.64 (m, 7 H), 1.02 ppm (t,  $J=7.4$  Hz, 3 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz): 174.7, 172.7, 137.0, 136.0, 128.8, 128.0, 126.4, 122.4, 122.3, 61.7, 60.1, 55.5, 55.3, 49.2, 46.5, 39.6, 37.2, 34.9, 34.8, 33.9, 31.6, 29.4, 27.9, 27.8, 25.2, 19.0, 12.3 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$  ( $\text{M}^{*+}$ ): 555.31119; Found 555.31154.

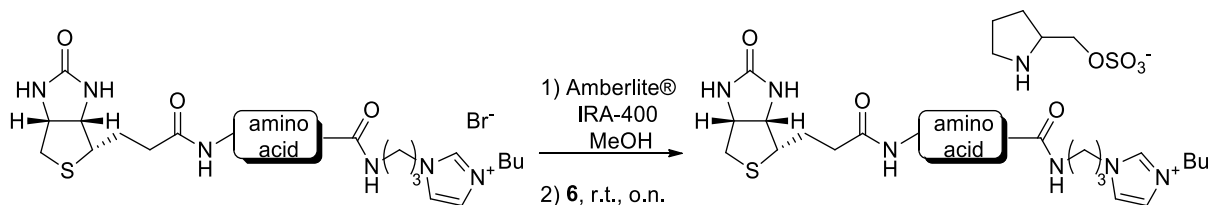


### Compound 28

Yellow foam, 91%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 8.81 (s, 1 H), 7.58 - 7.68 (m, 2 H), 7.53 (s, 1 H), 7.35 (d,  $J=8.1$  Hz, 1 H), 7.22 (s, 1 H), 6.96 - 7.14 (m, 2 H), 4.56 - 4.67 (m, 1 H), 4.42 - 4.51 (m, 1 H), 4.12 - 4.25 (m, 3 H), 3.91 (d,  $J=6.0$  Hz, 2 H), 3.24 - 3.32 (m, 1 H), 3.02 - 3.21 (m, 4 H), 2.87 - 2.96 (m, 1 H), 2.69 (d,  $J=13.8$  Hz, 1 H), 2.20 - 2.35 (m, 2 H), 1.80 - 1.97 (m, 4 H), 1.17 - 1.72 (m, 8 H), 1.01 ppm (t,  $J=7.4$  Hz, 3 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz): 174.6, 173.2, 164.6, 136.4, 135.8, 127.3, 123.4, 122.3, 122.2, 121.0, 118.4, 118.1, 110.9, 109.5, 51.6, 60.1, 55.4, 54.8, 49.3, 46.2, 39.6, 34.9, 34.8, 33.9, 31.5, 29.1, 27.7, 27.3, 26.2, 19.0, 12.3 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_7\text{O}_3\text{S}$  ( $\text{M}^{*+}$ ): 594.32209; Found 594.32287.

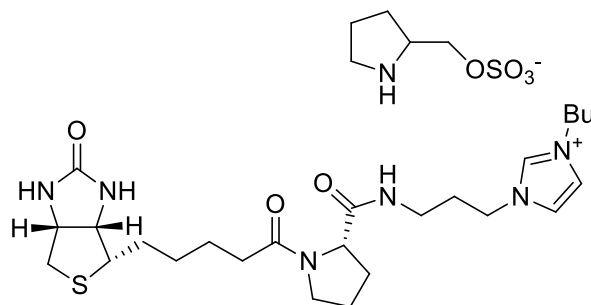


**Representative procedure for the synthesis of catalysts III-V**



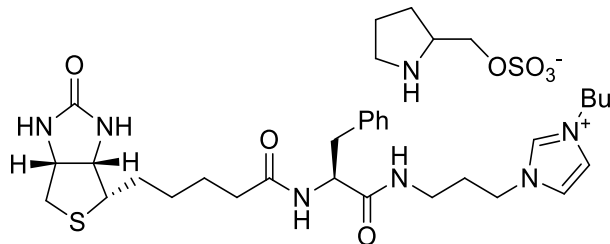
**29** : aa: L-Pro  
**30** : aa: L-Phe  
**31** : aa: L-Trp

Compounds **III-V** were synthesized following the procedure for the preparation of **I**.



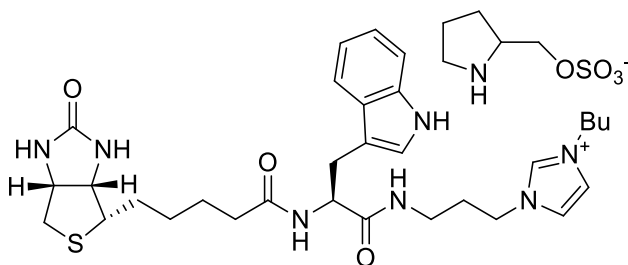
**Compound III**

White foam, 73%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.71 (s, 1 H), 7.67 (s, 1 H), 4.46 - 4.55 (m, 1 H), 4.24 (s, 5 H), 4.09 (d,  $J$ =4.6 Hz, 1 H), 4.01 (s, 1 H), 3.60 - 3.77 (m, 2 H), 3.47 - 3.59 (m, 1 H), 3.27 - 3.32 (m, 1 H), 3.05 - 3.26 (m, 3 H), 2.89 - 3.04 (m, 2 H), 2.67 - 2.76 (m, 1 H), 2.42 - 2.53 (m, 2 H), 2.19 - 2.30 (m, 1 H), 1.91 (br. s., 10 H), 1.32 - 1.82 (m, 10 H), 1.02 ppm (t,  $J$ =7.3 Hz, 3 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz): 173.9, 173.1, 164.5, 122.3, 122.2, 68.1, 61.7, 60.5, 60.1, 57.7, 55.5, 46.1, 47.4, 46.2, 45.3, 39.6, 34.5, 33.4, 31.5, 29.5, 29.4, 28.3, 28.1, 26.7, 24.4, 24.2, 24.0, 19.0, 12.3 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{51}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$  ( $\text{M}^{*+}$ ): 505.29554; Found 505.29700.



### Compound IV

Pale yellow foam, 78%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.66 - 7.70 (m, 1 H), 7.63 - 7.66 (m, 1 H), 7.30 (s, 5 H), 4.47 - 4.54 (m, 2 H), 4.21 - 4.31 (m, 3 H), 4.10 - 4.17 (m, 2 H), 4.03 - 4.08 (m, 1 H), 3.96 - 4.01 (m, 1 H), 3.41 - 3.49 (m, 1 H), 3.09 - 3.27 (m, 4 H), 2.87 - 3.07 (m, 4 H), 2.69 - 2.74 (m, 1 H), 2.22 - 2.29 (m, 2 H), 1.26 - 2.06 (m, 16 H), 1.02 ppm (t,  $J=7.3$  Hz, 3 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz): 174.7, 172.8, 164.6, 137.0, 128.8, 128.0, 126.4, 122.3, 122.2, 68.7, 61.7, 60.1, 57.4, 55.5, 55.3, 49.2, 46.4, 45.4, 39.6, 37.1, 34.9, 34.7, 31.5, 29.3, 27.9, 27.8, 26.9, 25.2, 24.3, 19.0, 12.3 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_6\text{O}_3\text{S}$  ( $\text{M}^{*+}$ ): 555.31119; Found 555.31256.

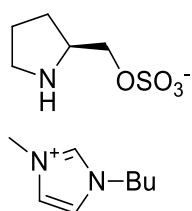


### Compound V

Yellow foam, 75%.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz):  $\delta$  = 7.58 - 7.67 (m, 2 H), 7.48 - 7.53 (m, 1 H), 7.28 - 7.36 (m, 1 H), 7.17 - 7.20 (m, 1 H), 6.97 - 7.11 (m, 2 H), 4.53 - 4.59 (m, 1 H), 4.42 - 4.50 (m, 1 H), 4.13 - 4.23 (m, 3 H), 4.01 - 4.08 (m, 1 H), 3.93 - 3.99 (m, 1 H), 3.84 - 3.92 (m, 2 H), 3.39 - 3.47 (m, 1 H), 3.23 - 3.29 (m, 1 H), 2.97 - 3.16 (m, 5 H), 2.85 - 2.93 (m, 2 H), 2.65 - 2.70 (m, 1 H), 2.23 - 2.30 (m, 2 H), 1.20 - 1.98 (m, 16 H), 1.00 ppm (t,  $J=7.4$  Hz, 3 H),  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 100 MHz): 178.3, 176.9, 168.2, 140.2, 130.9, 127.0, 125.9, 125.8, 124.9, 122.1, 121.7, 114.6, 113.2, 72.3, 65.2, 63.8, 61.1, 59.1, 58.5, 52.8, 49.9, 49.0, 43.2, 38.5, 38.4, 35.2, 32.8, 31.4, 30.9, 30.6, 28.8, 27.9, 22.7, 15.9 ppm. HRMS (ESI) Calcd for  $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_7\text{O}_3\text{S}$  ( $\text{M}^{*+}$ ): 594.32209; Found 594.32336.

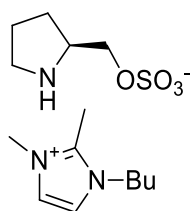
### General procedure for the preparation of [Bmim]-L-6 and [Bdmim]-L-6

Corresponding imidazolium salt (0.37 mmol, 1 eq.) was dissolved in 6 ml of methanol, and passed through a column loaded with 3g of anion exchange resin Amberlite IRA-400® hydroxide form, and the column was washed two times with 4 ml of methanol. L-pyrrolidinemethanesulfonate (1.05eq, 0.388 mmol) was then added to the reaction, and the mixture was allowed to stir at room temperature for 3 hours. The solvent was then evaporated and the residue was dissolved in 1 ml of a 1:9 mixture of MeOH:CH<sub>3</sub>CN. The excess of zwitterion precipitated after about an hour, and the mixture was then filtrated and concentrated *in vacuo* to afford corresponding products as pale yellow oils.



#### [Bmim]-L-6

Yield: 82%. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 7.69 (d, *J*=1.8 Hz, 1 H), 7.62 (d, *J*=1.7 Hz, 1 H), 4.27 (t, *J*=7.3 Hz, 2 H), 3.92 - 4.09 (m, 5 H), 3.43 (dd, *J*=6.8, 5.5 Hz, 1 H), 3.02 (dt, *J*=10.4, 6.8 Hz, 1 H), 2.91 (dt, *J*=10.3, 7.2 Hz, 1 H), 1.75 - 2.02 (m, 5 H), 1.53 - 1.66 (m, 1 H), 1.42 (dq, *J*=15.1, 7.4 Hz, 2 H), 1.02 ppm (t, *J*=7.3 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz): 135.9 (t, coupling with deuterium), 123.2, 121.9, 68.8, 56.9, 48.8, 45.2, 34.7, 31.3, 26.9, 24.2, 18.7, 12.0 ppm. HRMS (ESI) Calcd for C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub> (M<sup>+</sup>): 139.12352; Found 139.12433.



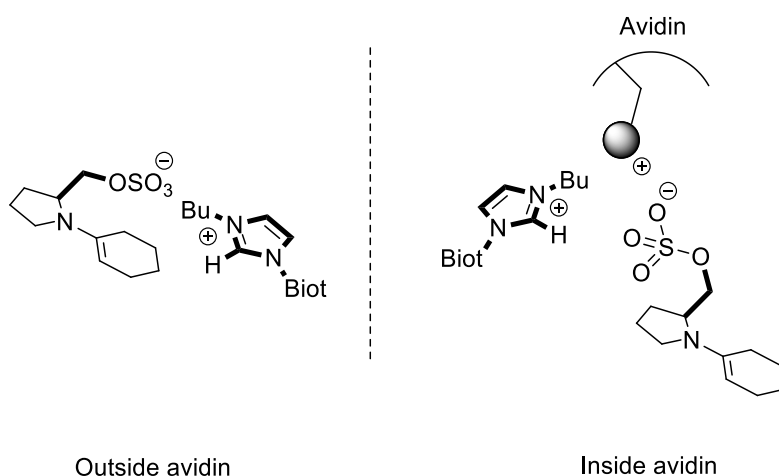
#### [Bdmim]-L-6

Yield: 70%. <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ = 7.56 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H), 7.52 (d, *J*=2.0 Hz, 1 H), 4.19 (t, *J*=7.4 Hz, 2 H), 3.92 - 4.08 (m, 2 H), 3.86 (s, 3 H), 3.40 - 3.51 (m, 1 H), 2.99 - 3.09 (m, 1 H), 2.94 (dt, *J*=10.4, 7.0 Hz, 1 H), 2.67 (s, 3 H), 1.76 - 2.03 (m, 5 H), 1.55 - 1.68 (m, 1 H), 1.43 (dq, *J*=15.2, 7.4 Hz, 2 H), 1.02 ppm (t, *J*=7.3 Hz, 3 H), <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD,

100 MHz): 144.1, 121.9, 120.4, 68.7, 57.0, 45.1, 33.7, 31.0, 26.9, 24.1, 18.8, 12.1, 7.8 ppm.  
HRMS (ESI) Calcd for C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub> (M<sup>+</sup>): 153.14251; Found 153.14332.

## Discussion on selectivity inside Avidin

The possible reason for the inversion of selectivity observed when the reaction was carried out inside the avidin can be rationalized by the binding of the sulfonate moiety to a cationic residue inside the protein (*i.e.* lysine) resulting in less steric discrimination for the cyclohexane faces ( Figure below)



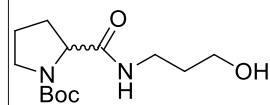
Less differentiation between the two faces would result on a stereocontrol of the reaction based only on the architecture of the avidin binding site. While still speculations, this could be a possible explanation for the inversion of selectivity observed in the presence of avidin.

## References

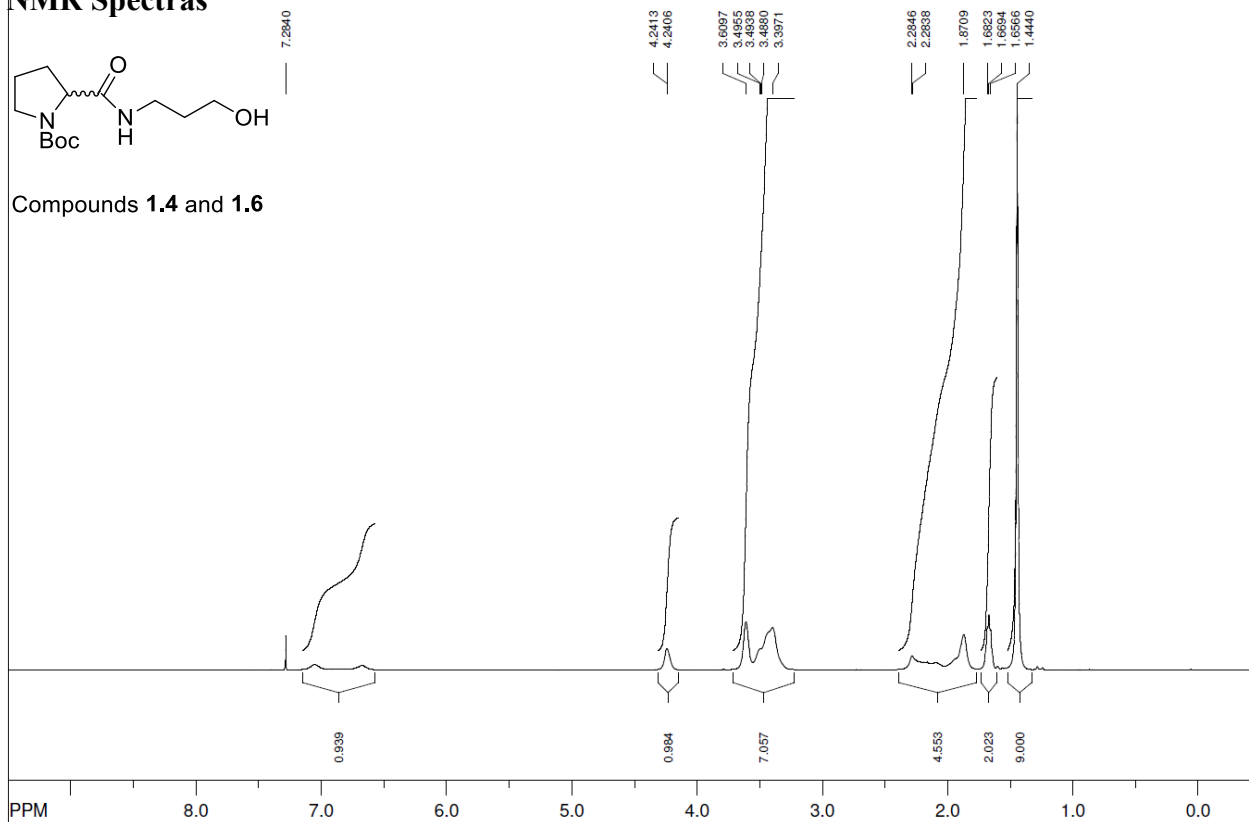
- 1 Harjani, J. R.; Frišćić, T.; MacGillivray, L. R.; Singer, R. D., *Dalton Trans.* **2008**,(34), 4595.
- 2 Gauchot, V.; Gravel, J.; Schmitzer, A. R., *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 2012 (31), 6280.
- 3 Kong, X.; He, Z.; Zhang, Y.; Mu, L.; Liang, C.; Chen, B.; Jing, X.; Cammidge, A. N., *Org. Lett.* **2011**, 13 (4), 764.
- 4 Jahani, F.; Tajbakhsh, M.; Khaksar, S.; Azizi, M. R., *Monatsh. Chem.* **2011**, 142 (10), 1035.

**Annexe 4** : Partie expérimentale de l'article 4 : « Catalytic anions embedded into avidin: importance of their chirality and the chiral environment on the stereocontrol of the aldol reaction »

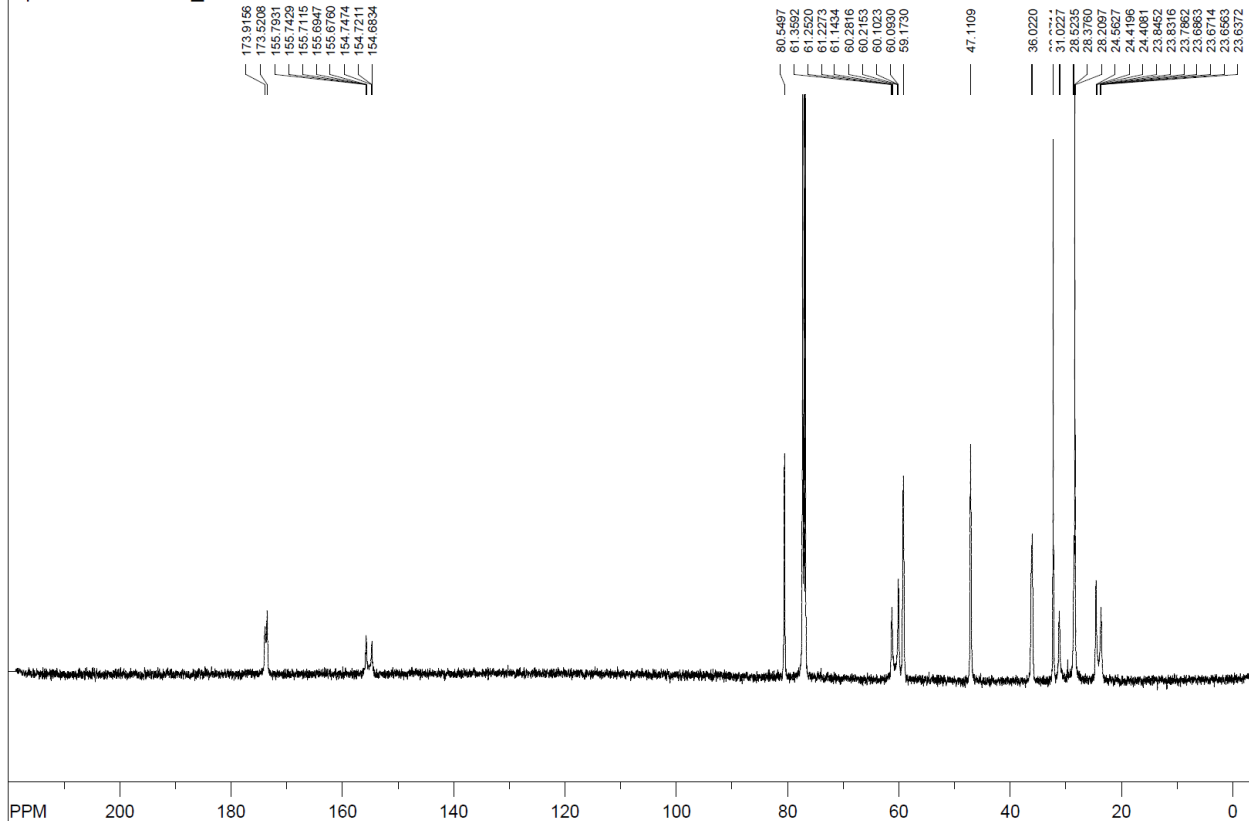
SpinWorks 2.5: ...1  
**NMR Spectras**

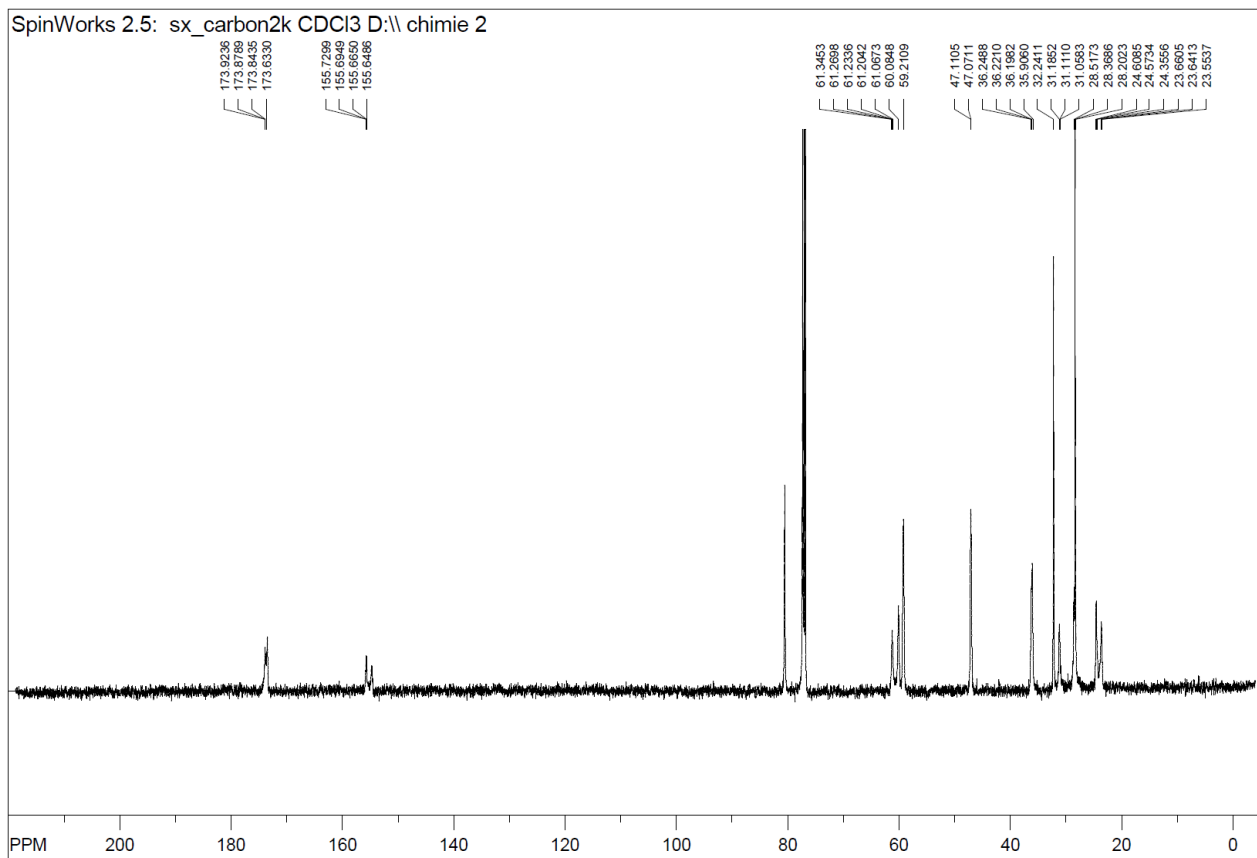
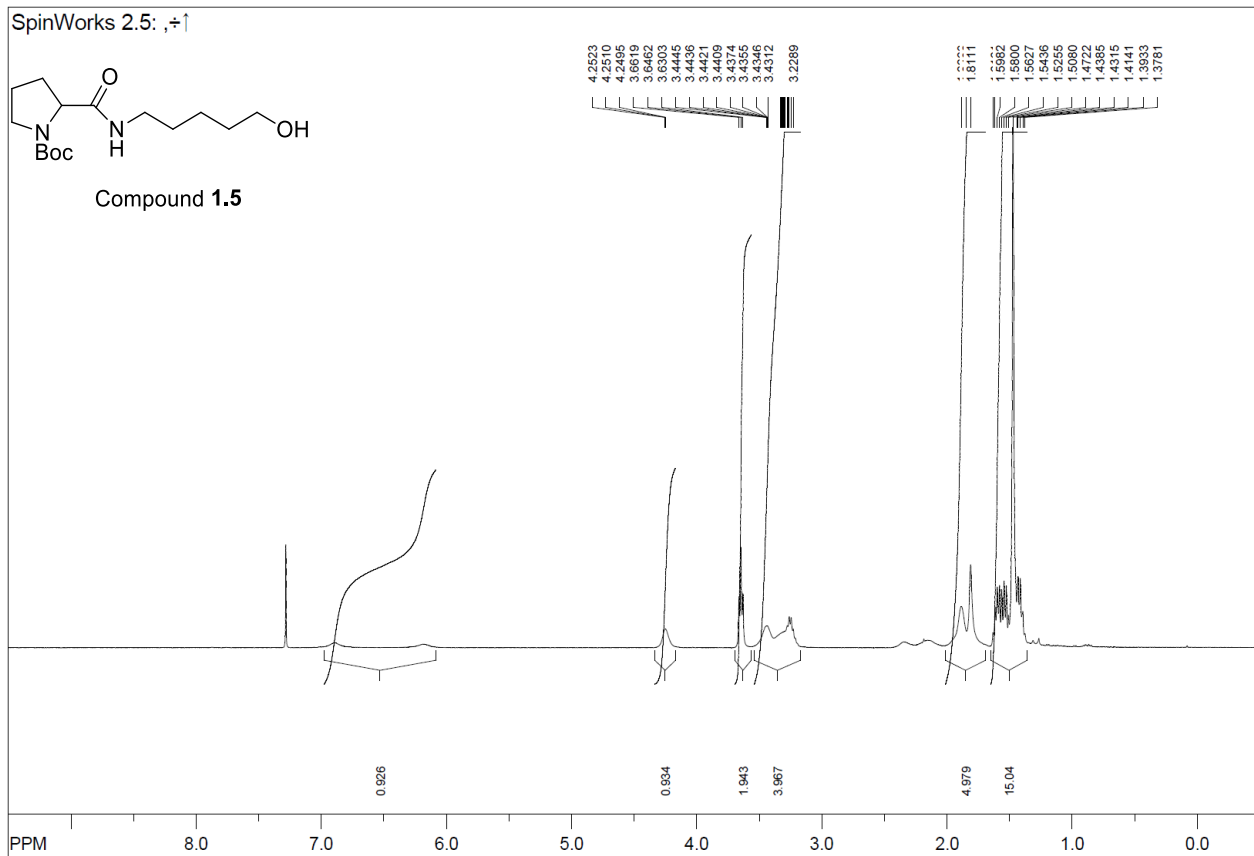


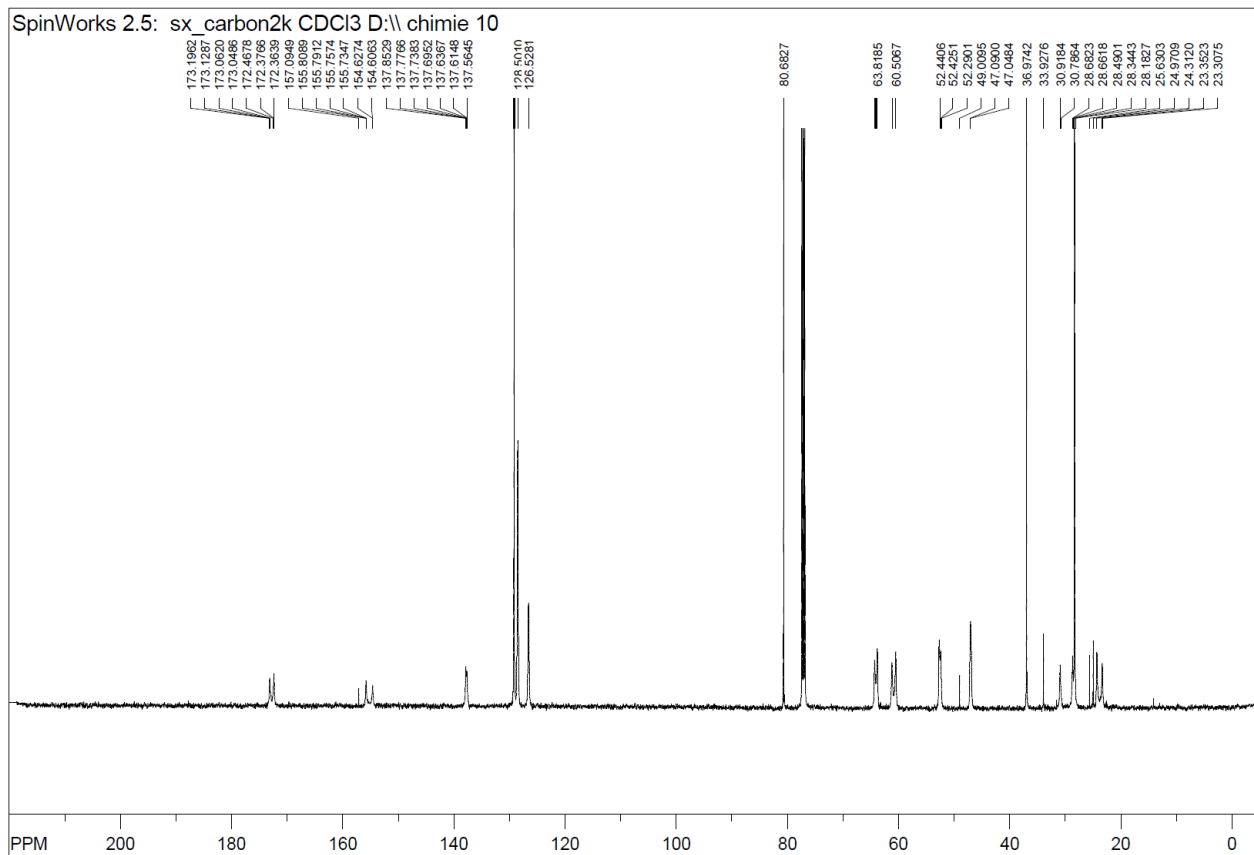
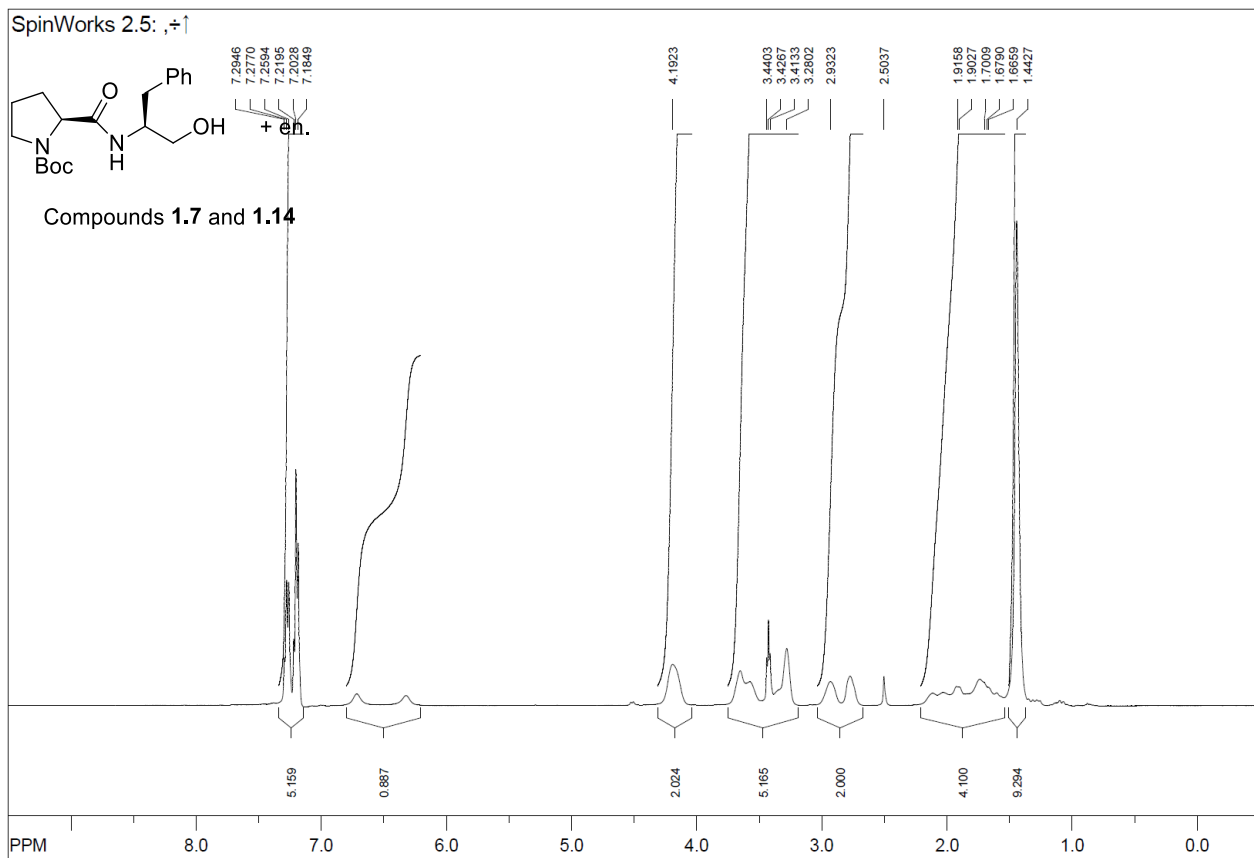
Compounds **1.4** and **1.6**



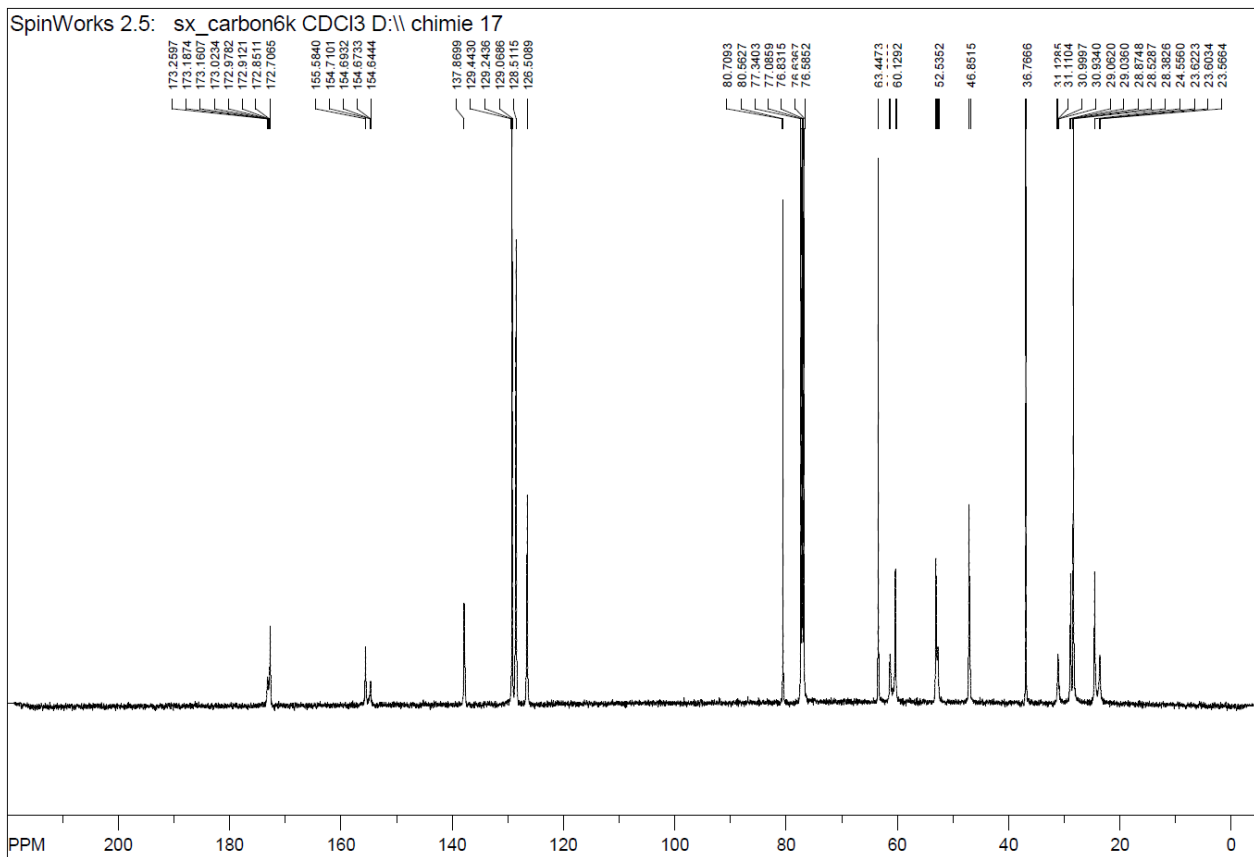
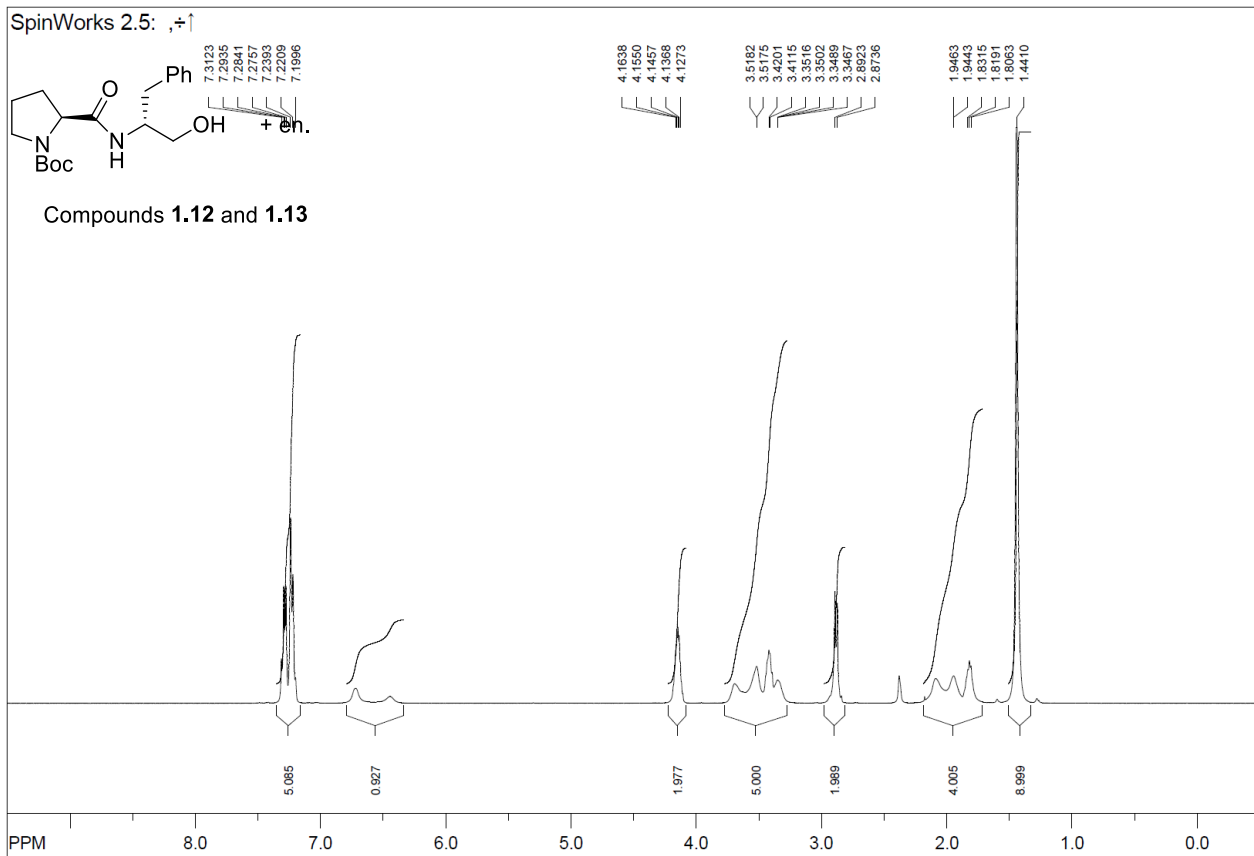
SpinWorks 2.5: sx\_carbon6k CDCl3 D:\\ chimie 9

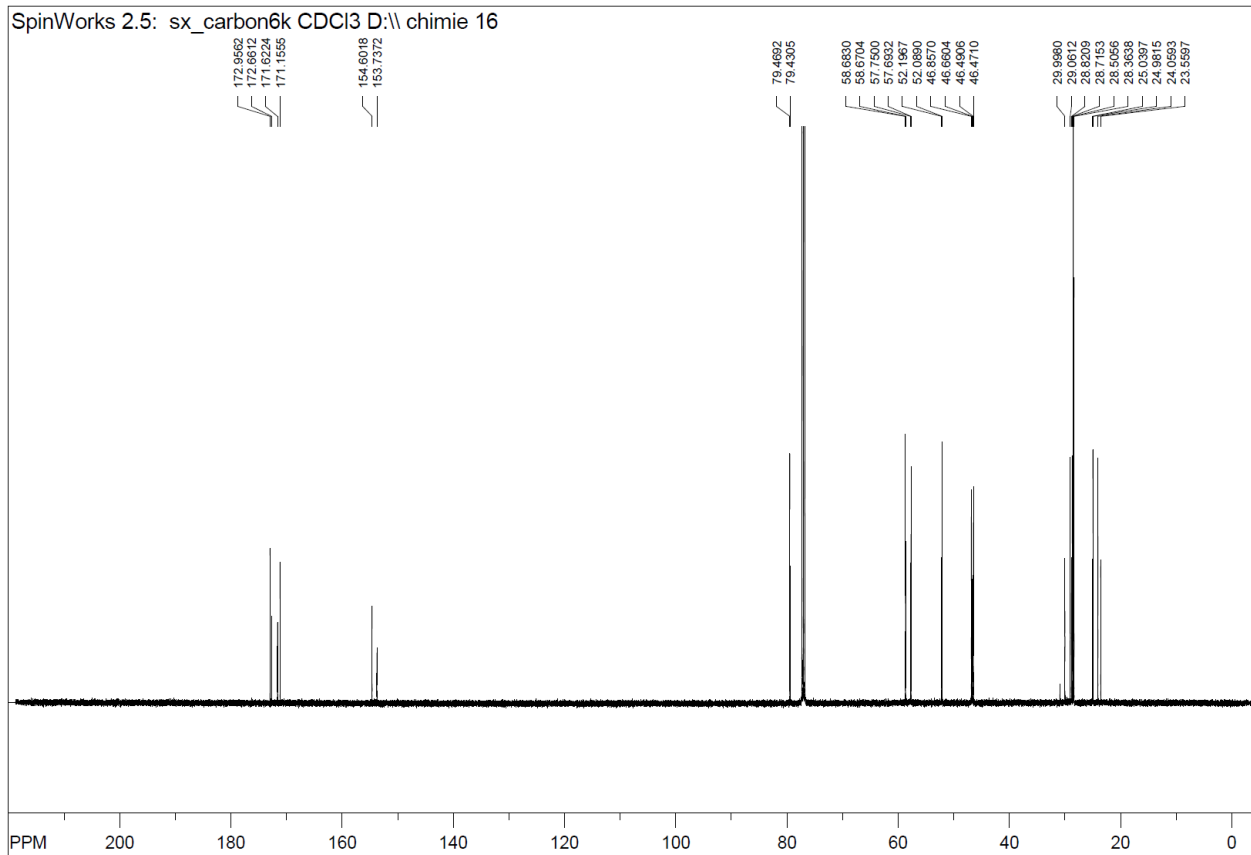
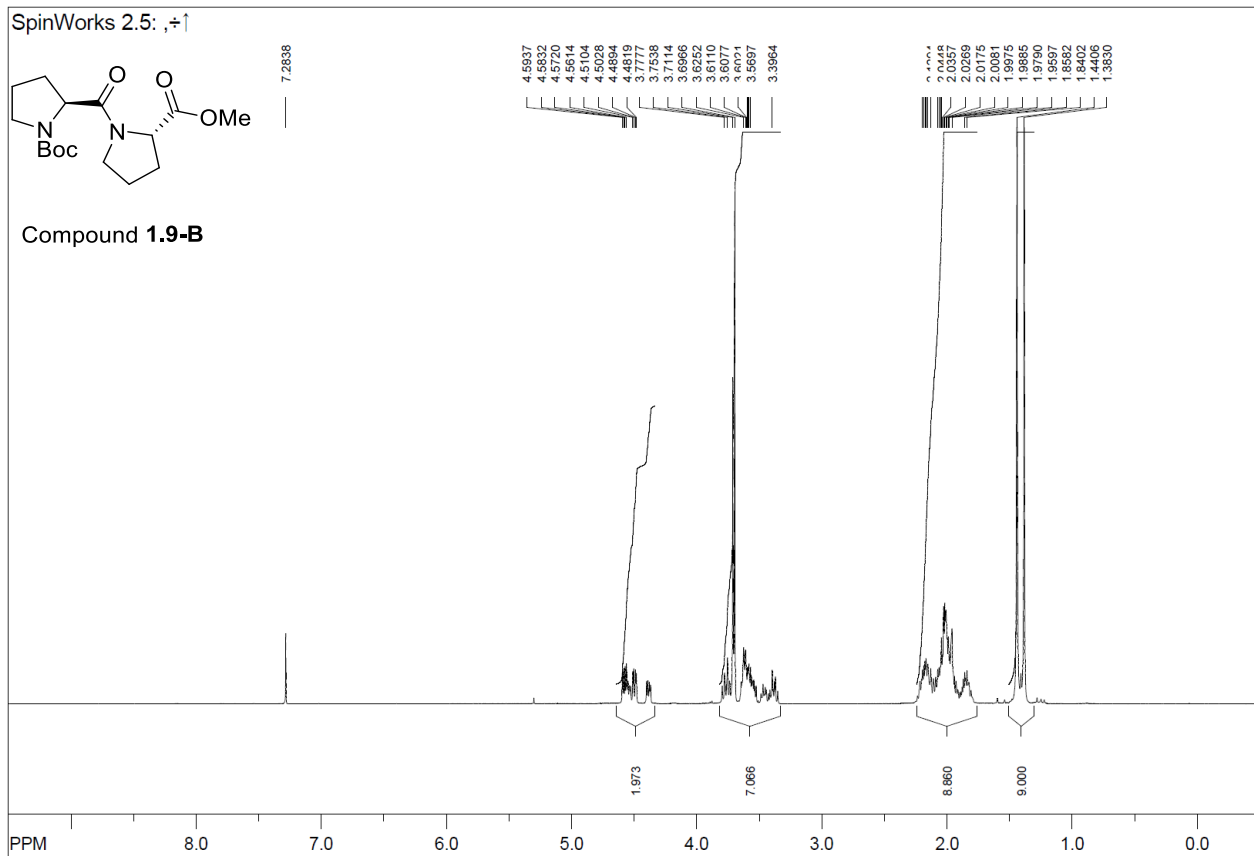


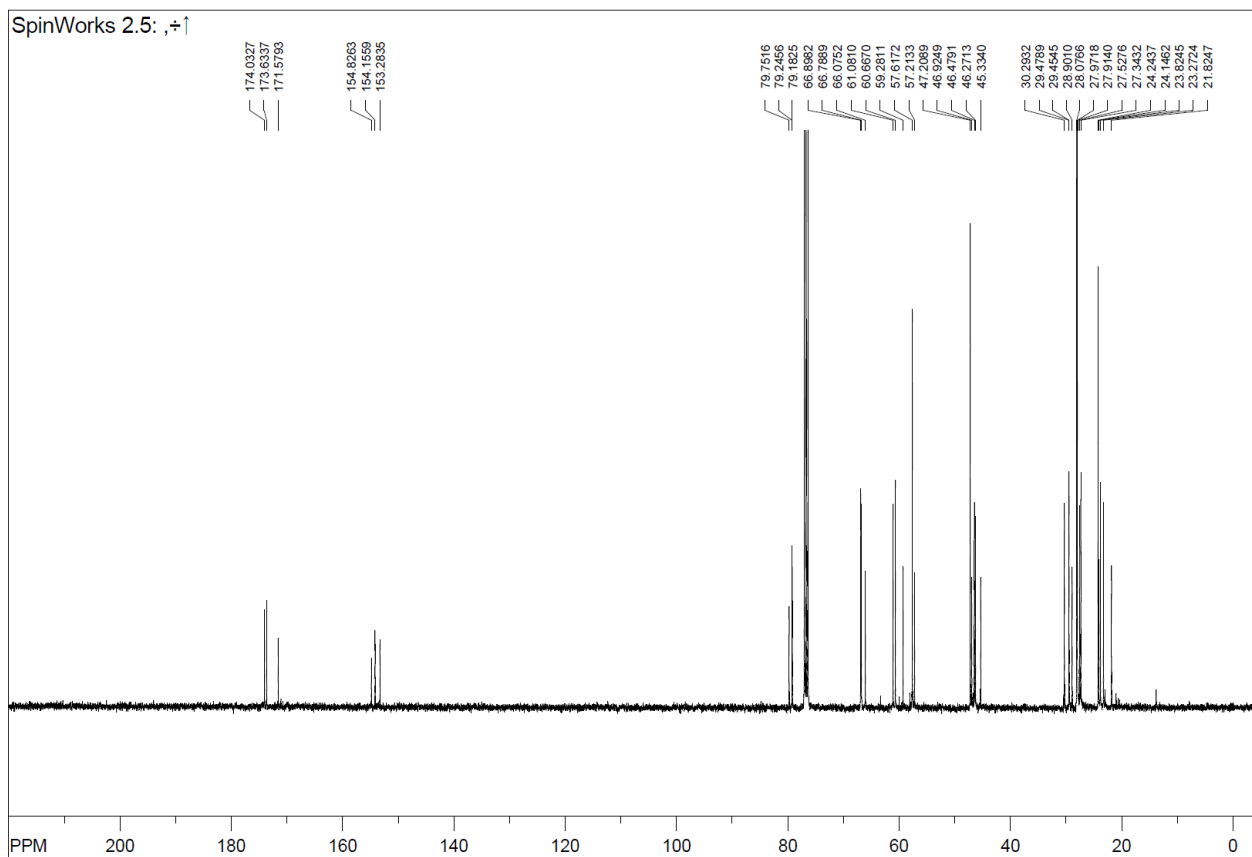
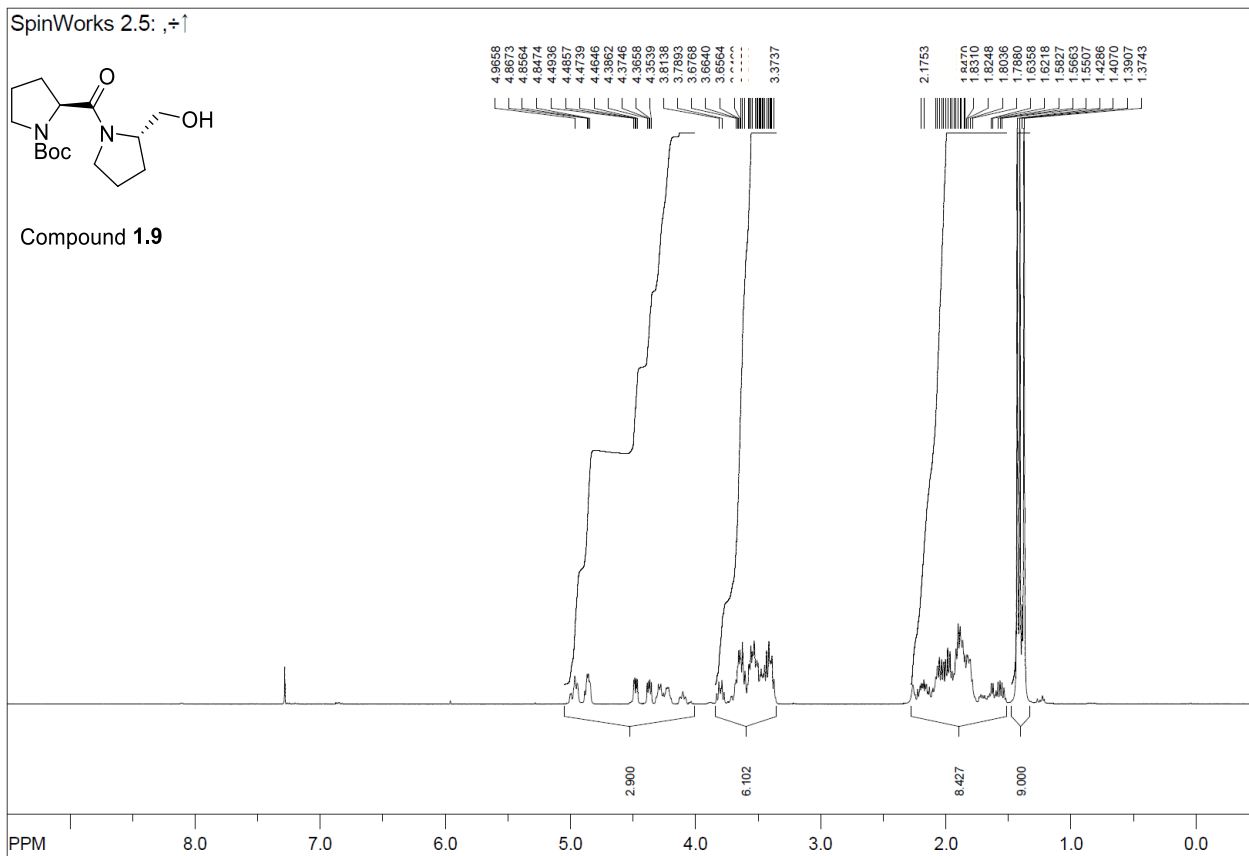






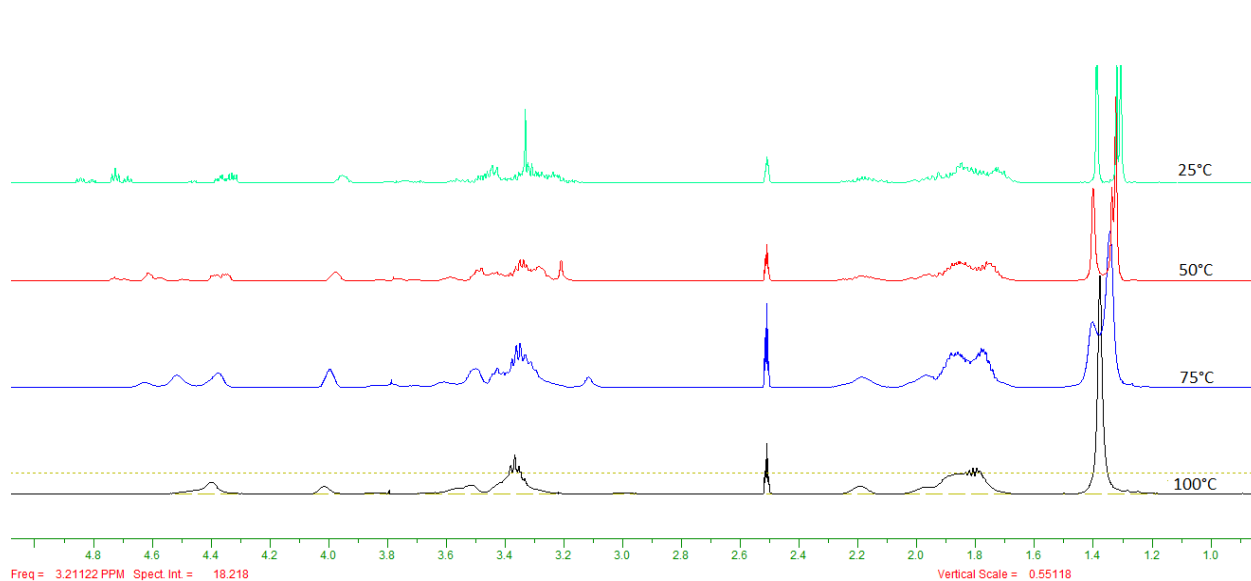


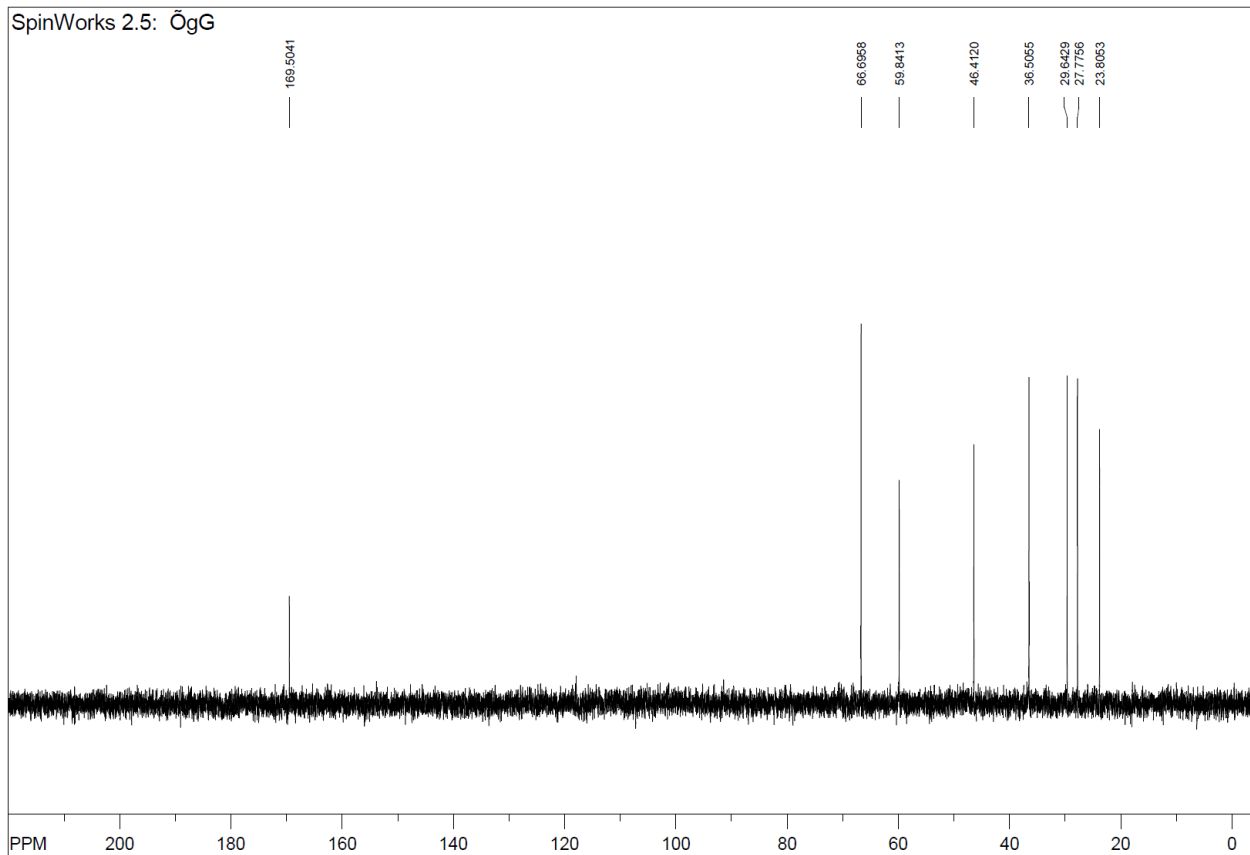
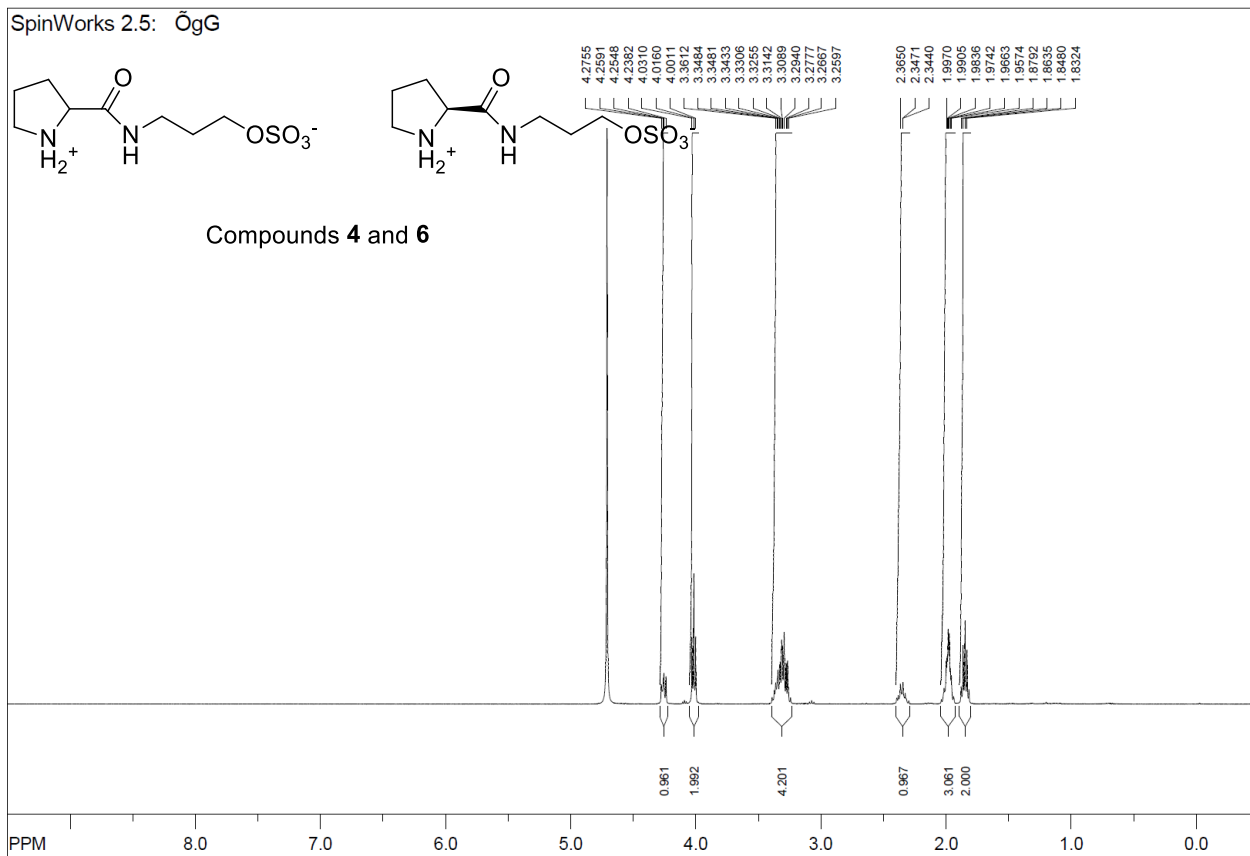


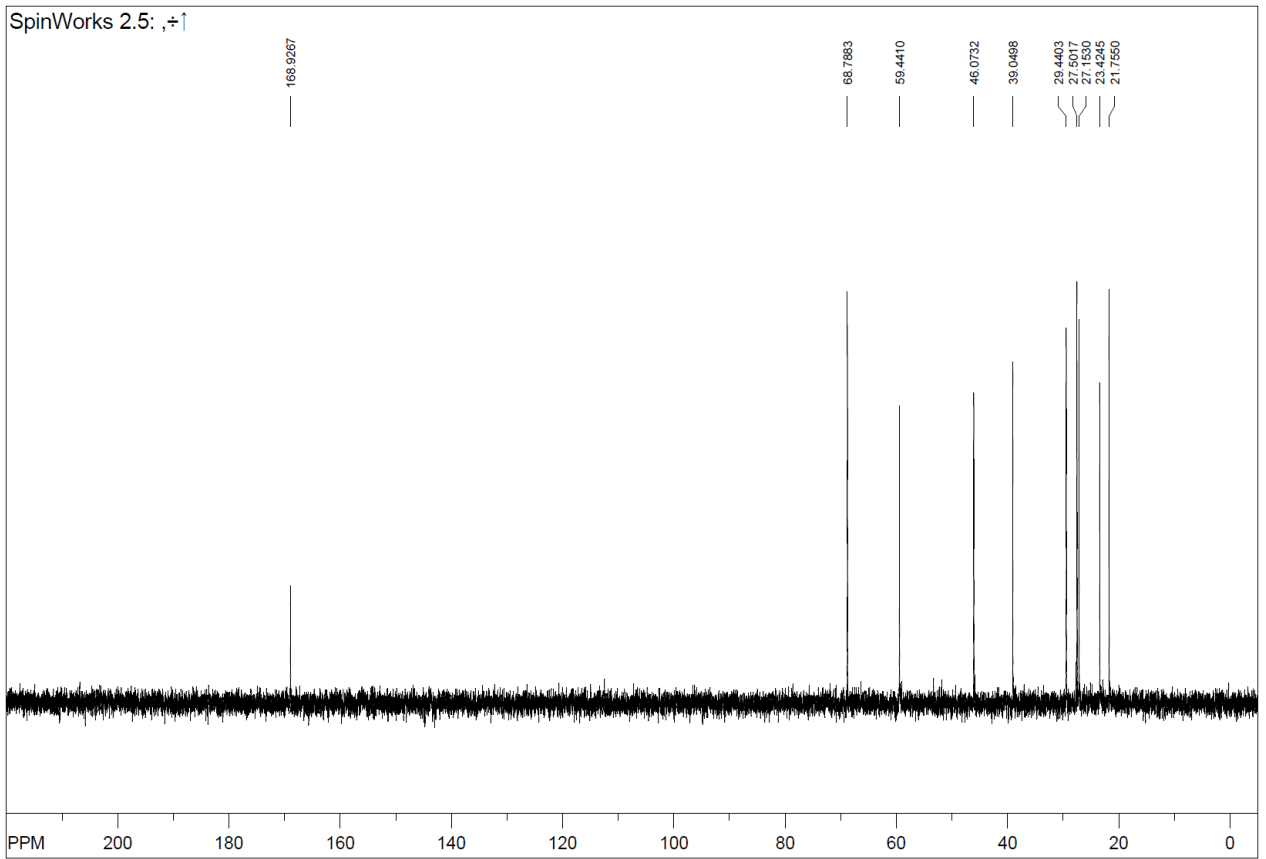
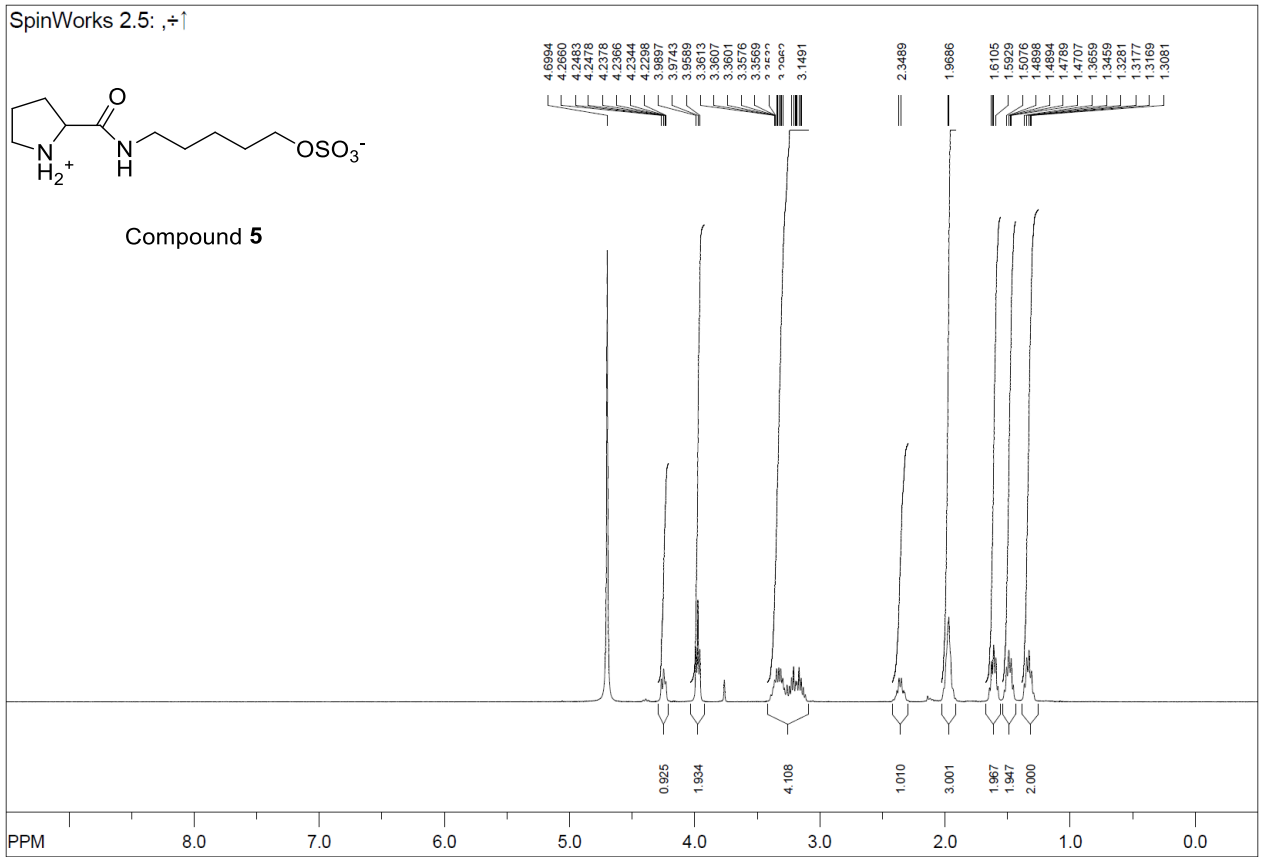


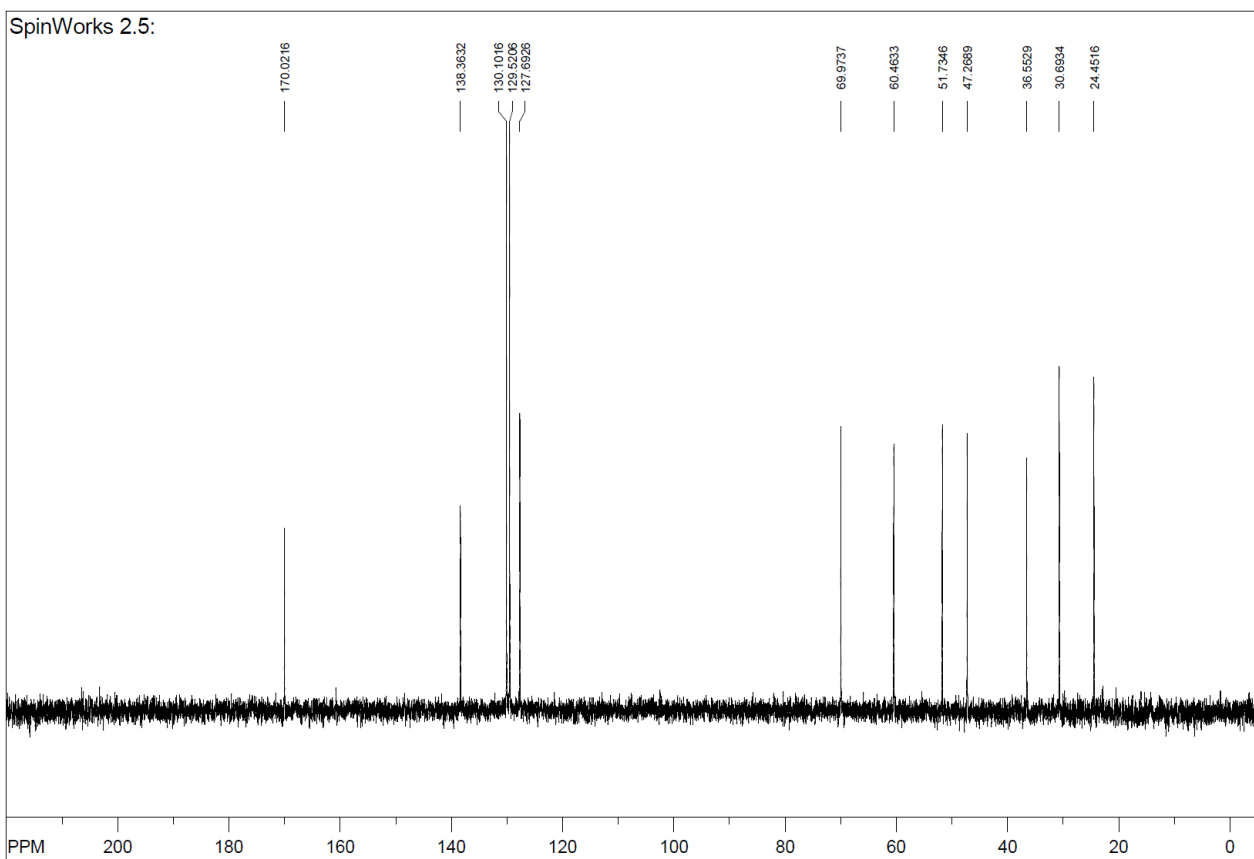
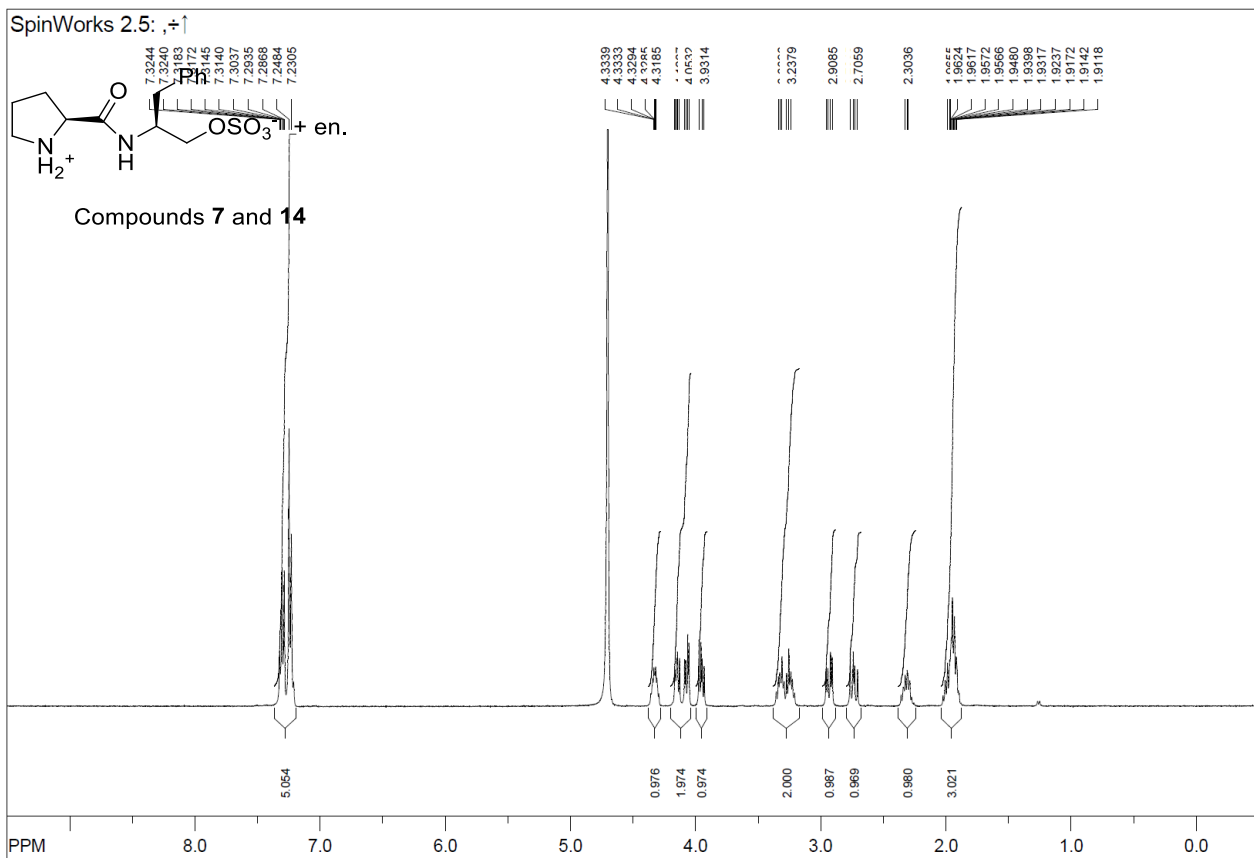
## Variable-temperature Studies for compound 1.9

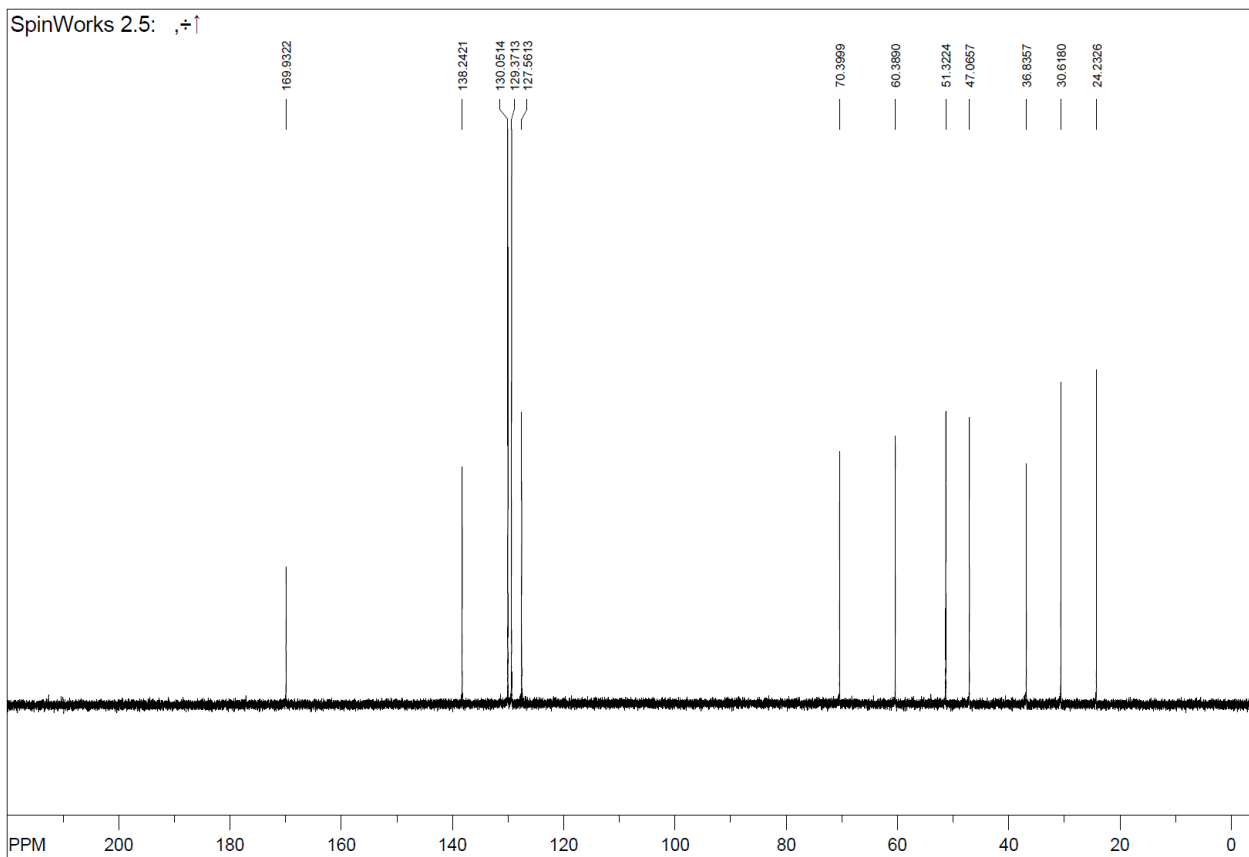
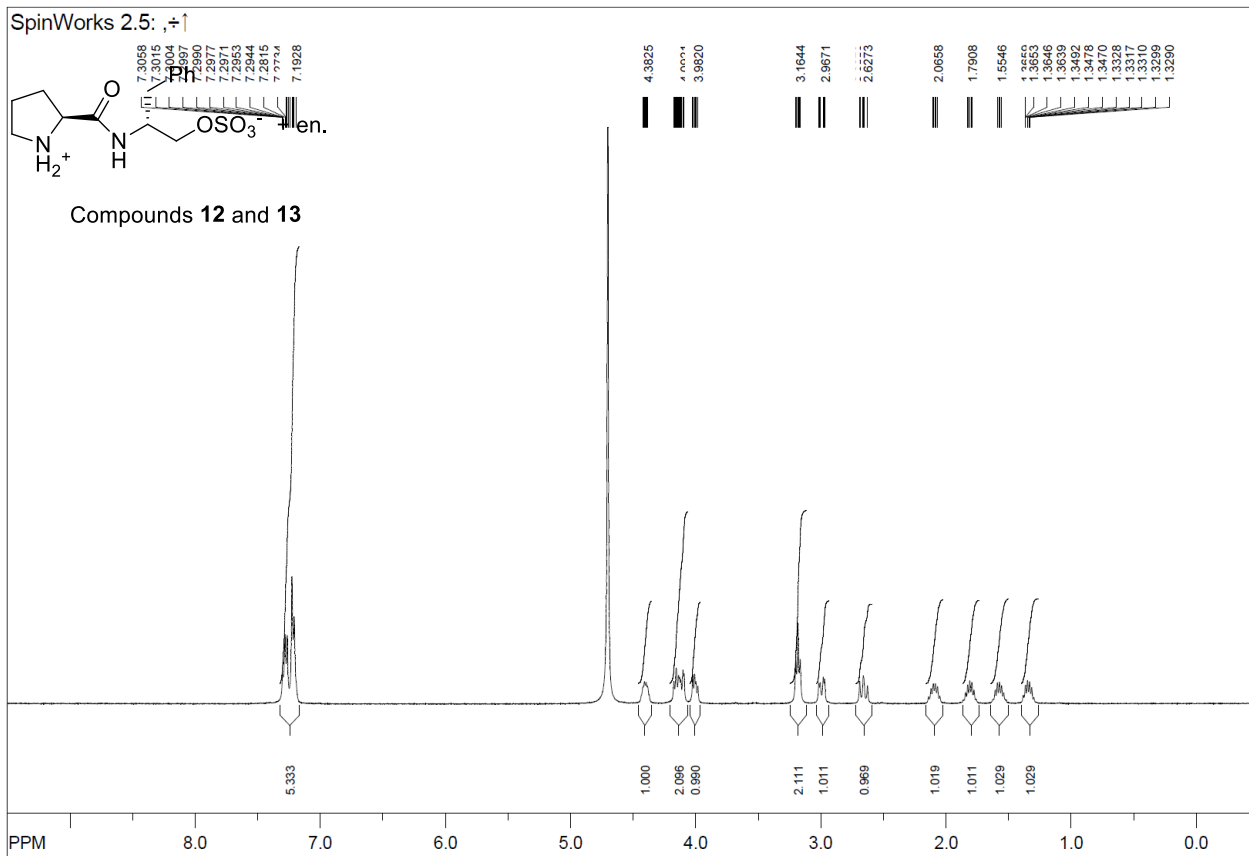
*NMR of this compound in dms<sub>o</sub>-d<sub>6</sub> was carried out at different temperatures to confirm the presence of rotamers. As an example, the predominant three distinctives peaks seen for the Boc group (1.40-1.24 ppm) at 25°C all merged into one signal (1.35 ppm), when the compound was heated to 100°C. This behavior was observed for the all 9 series.*



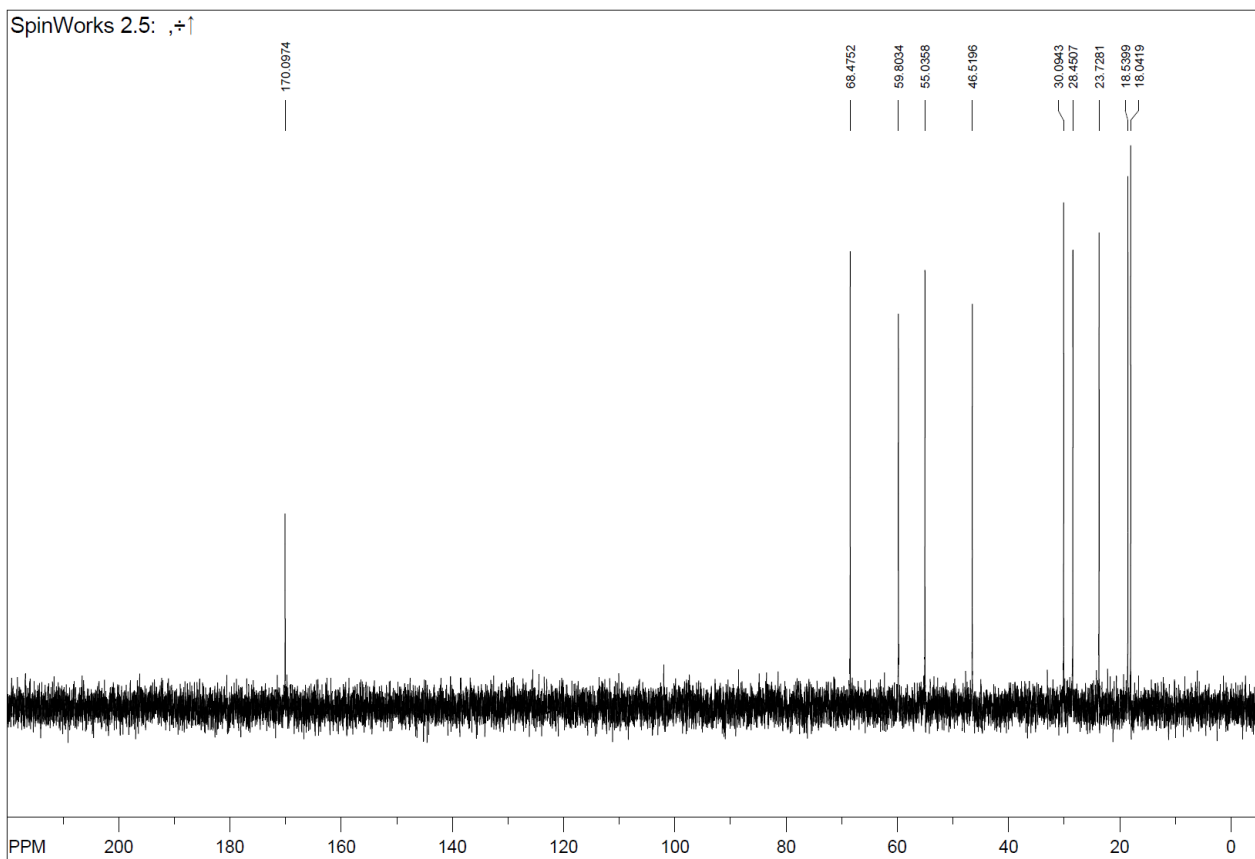
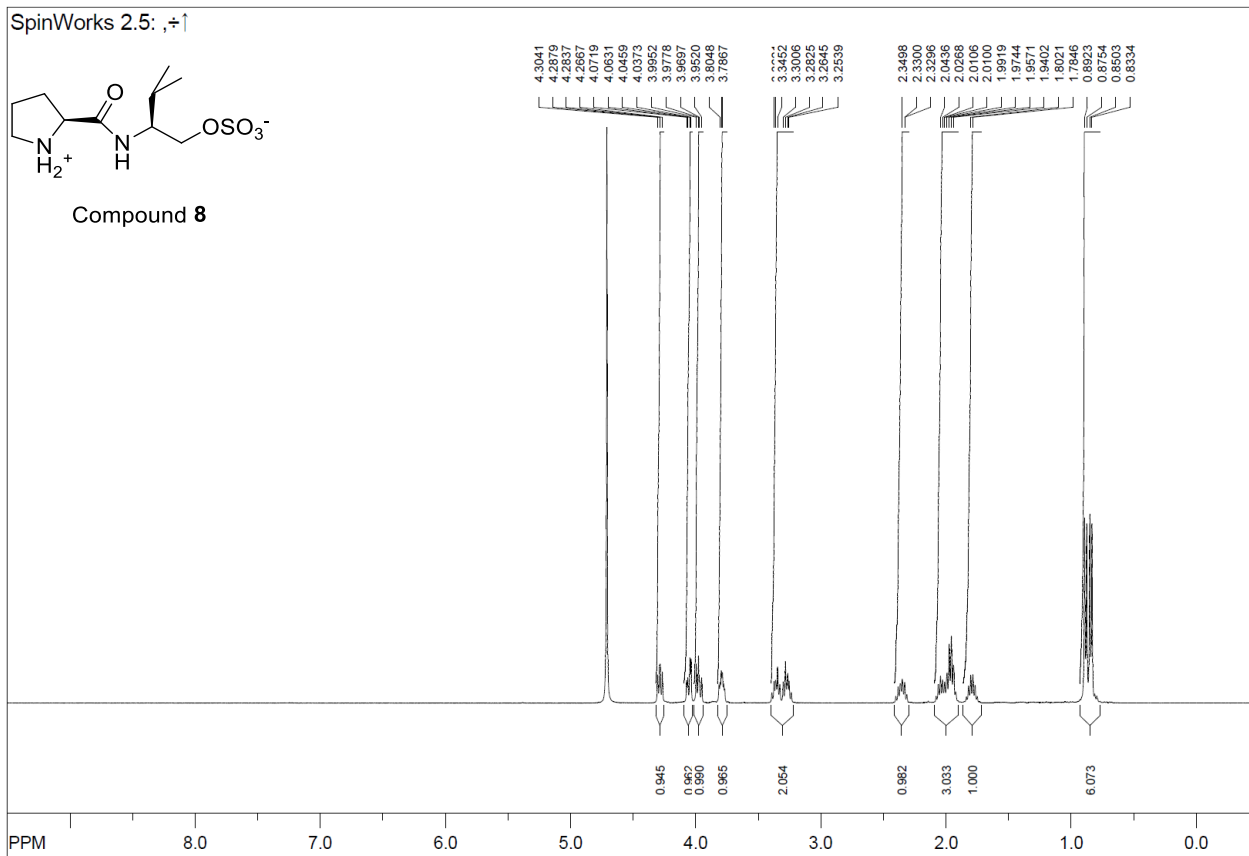


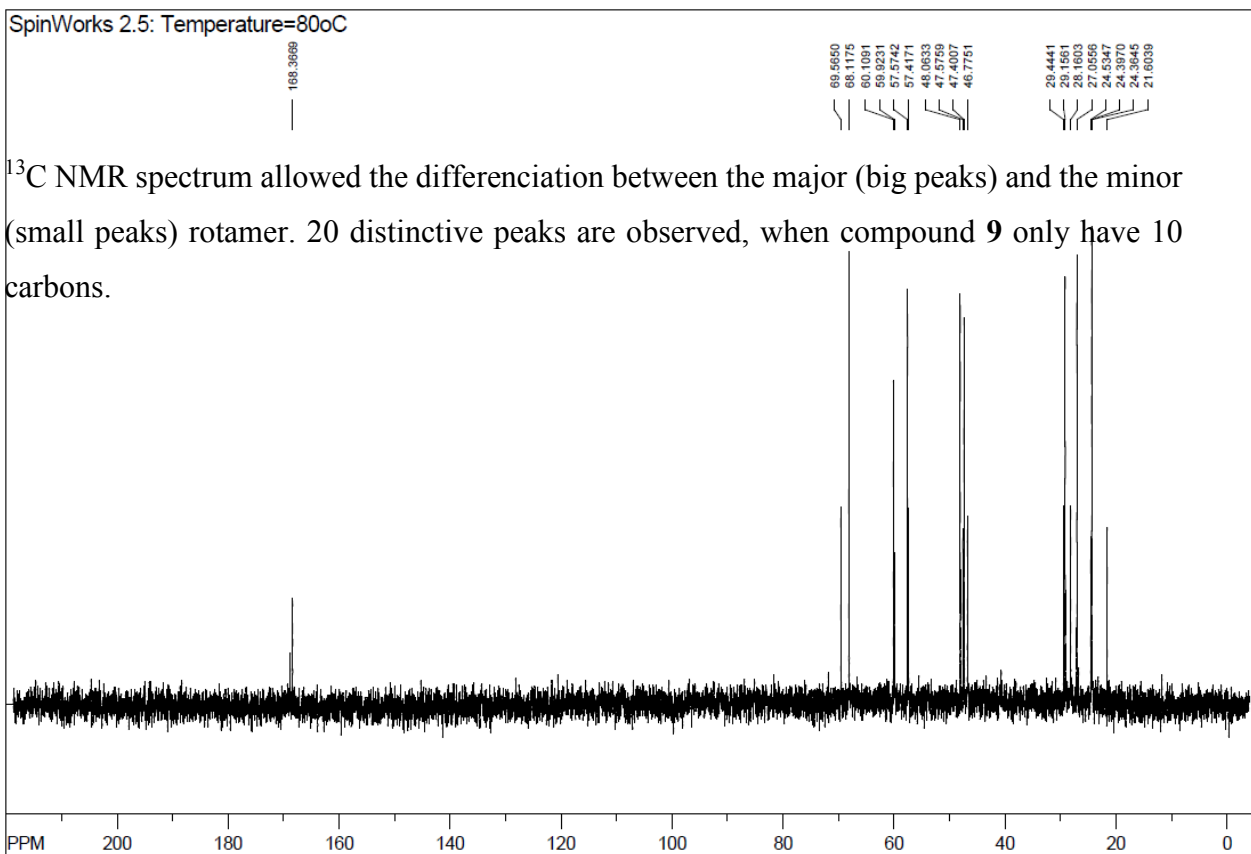
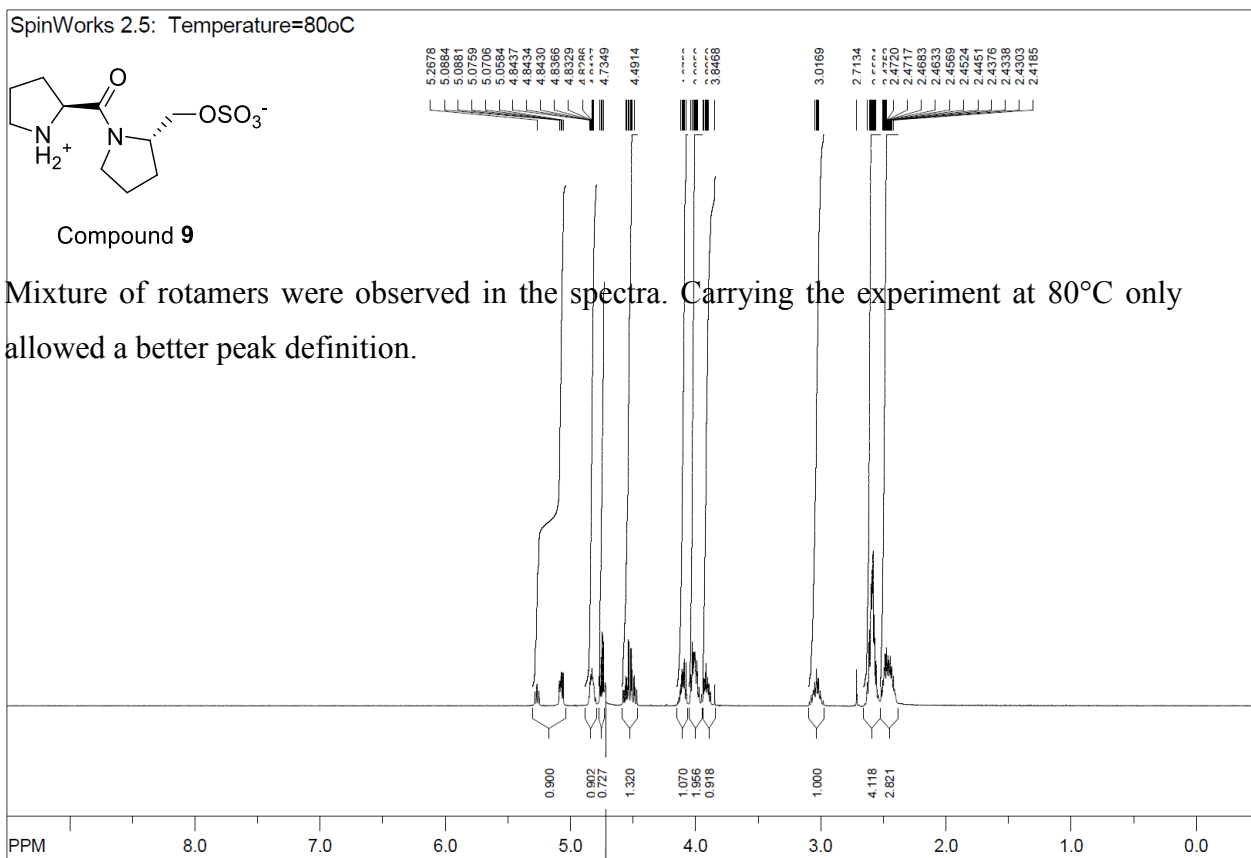


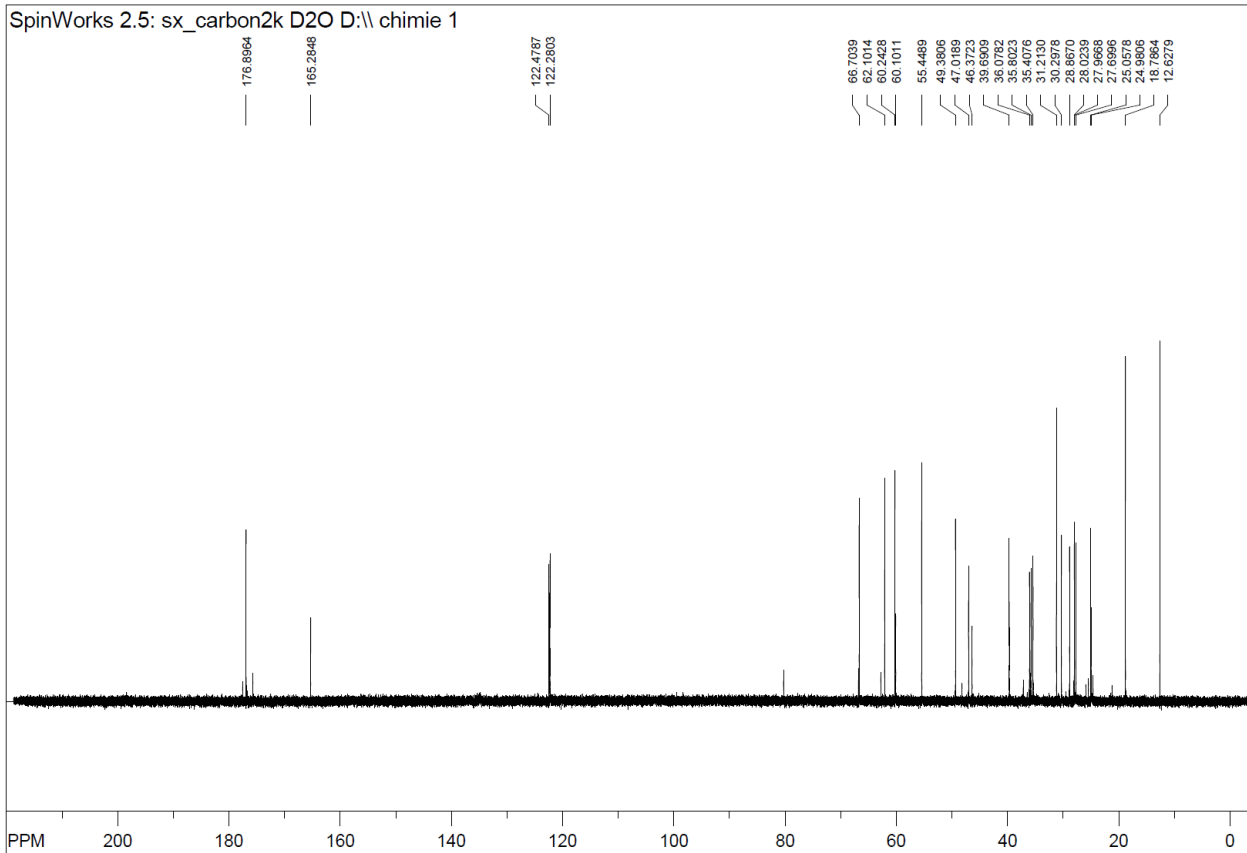
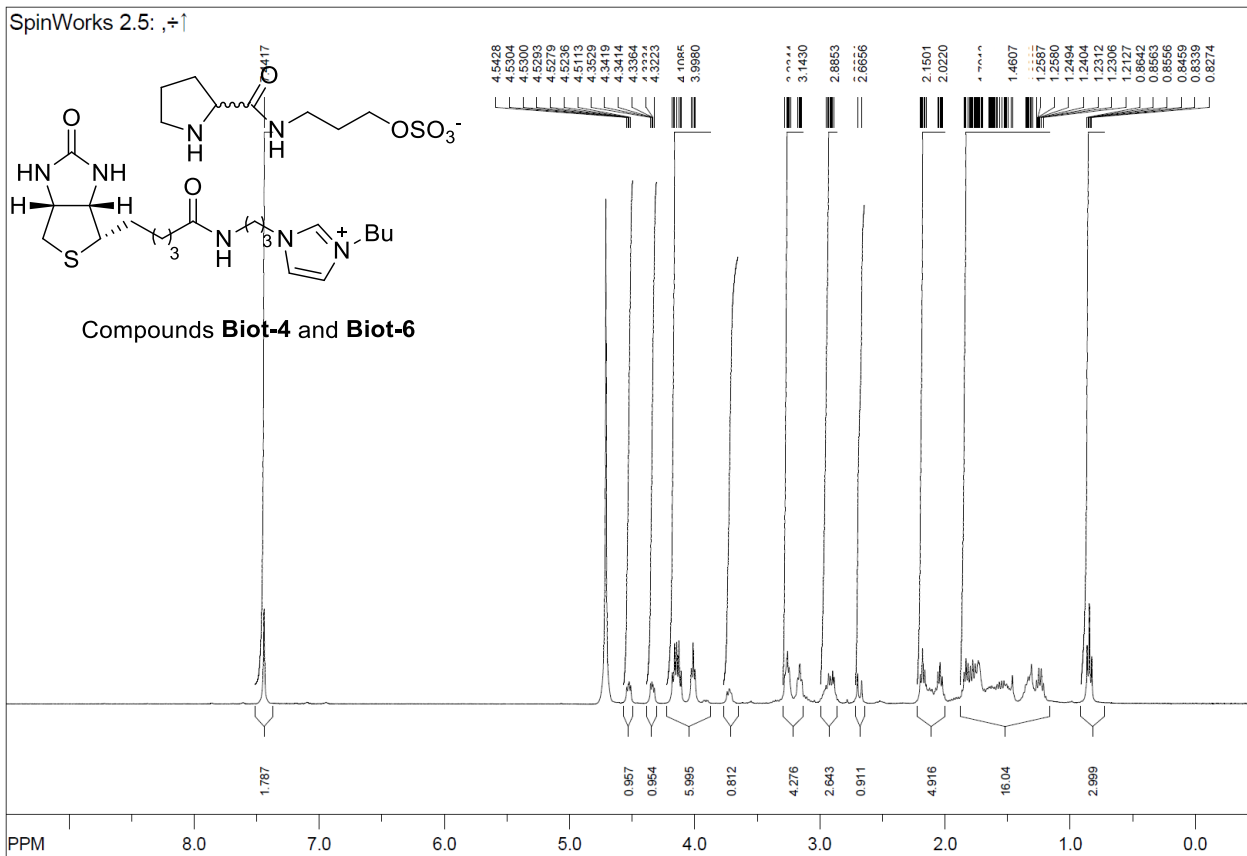


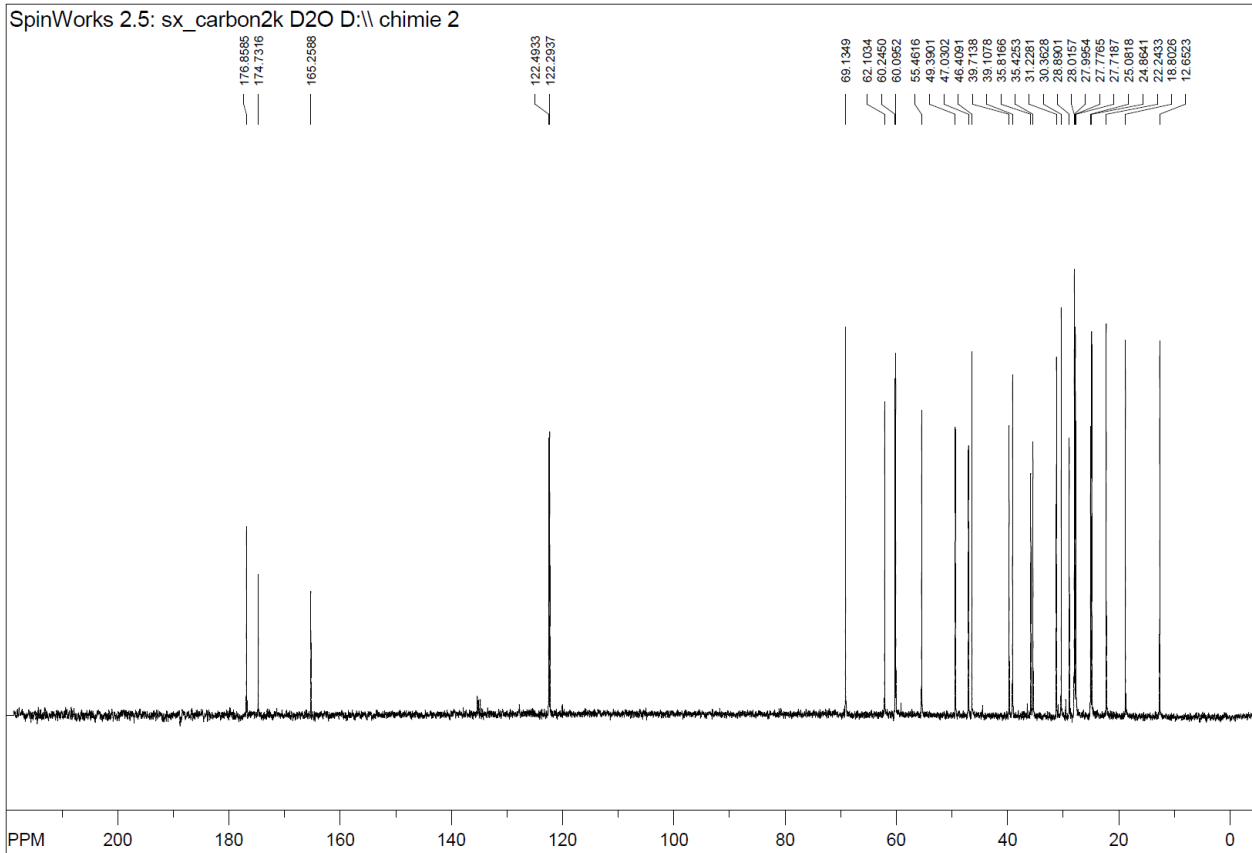
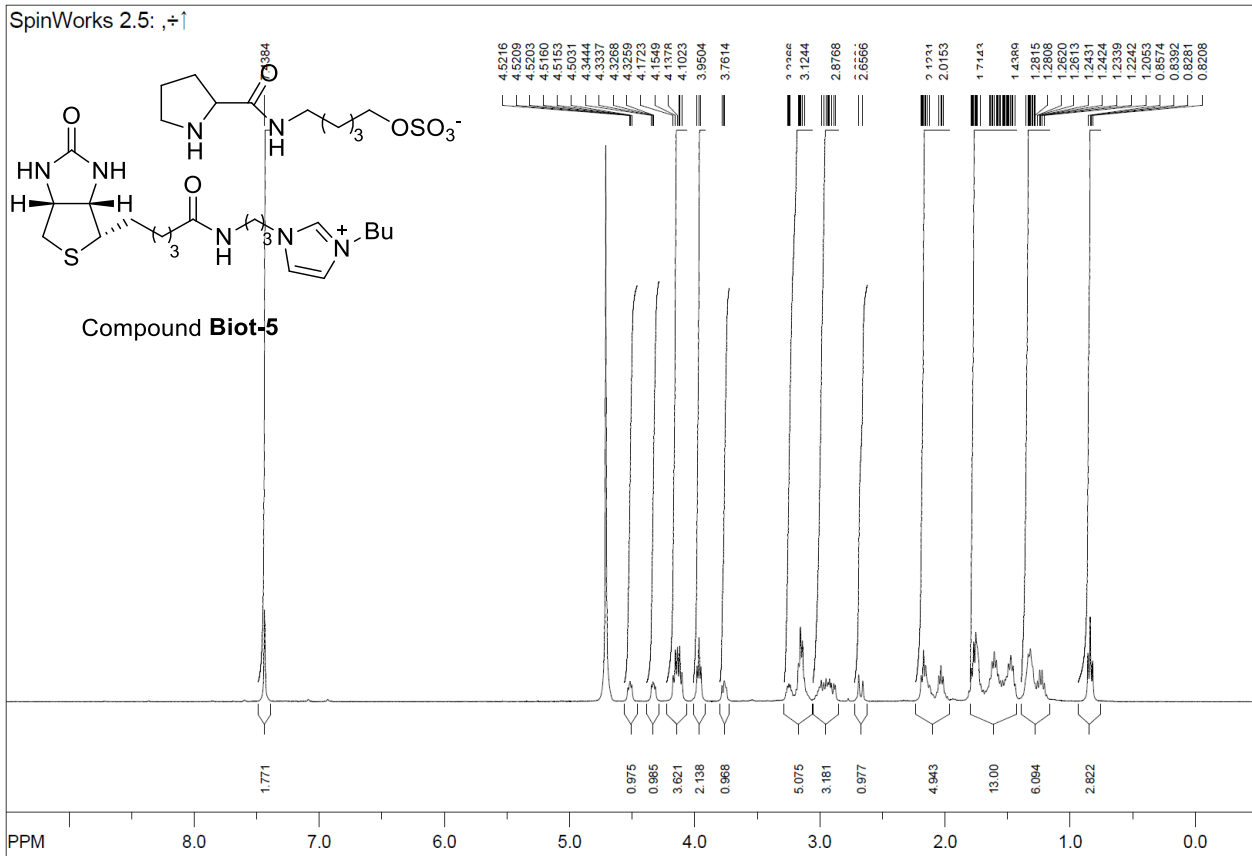


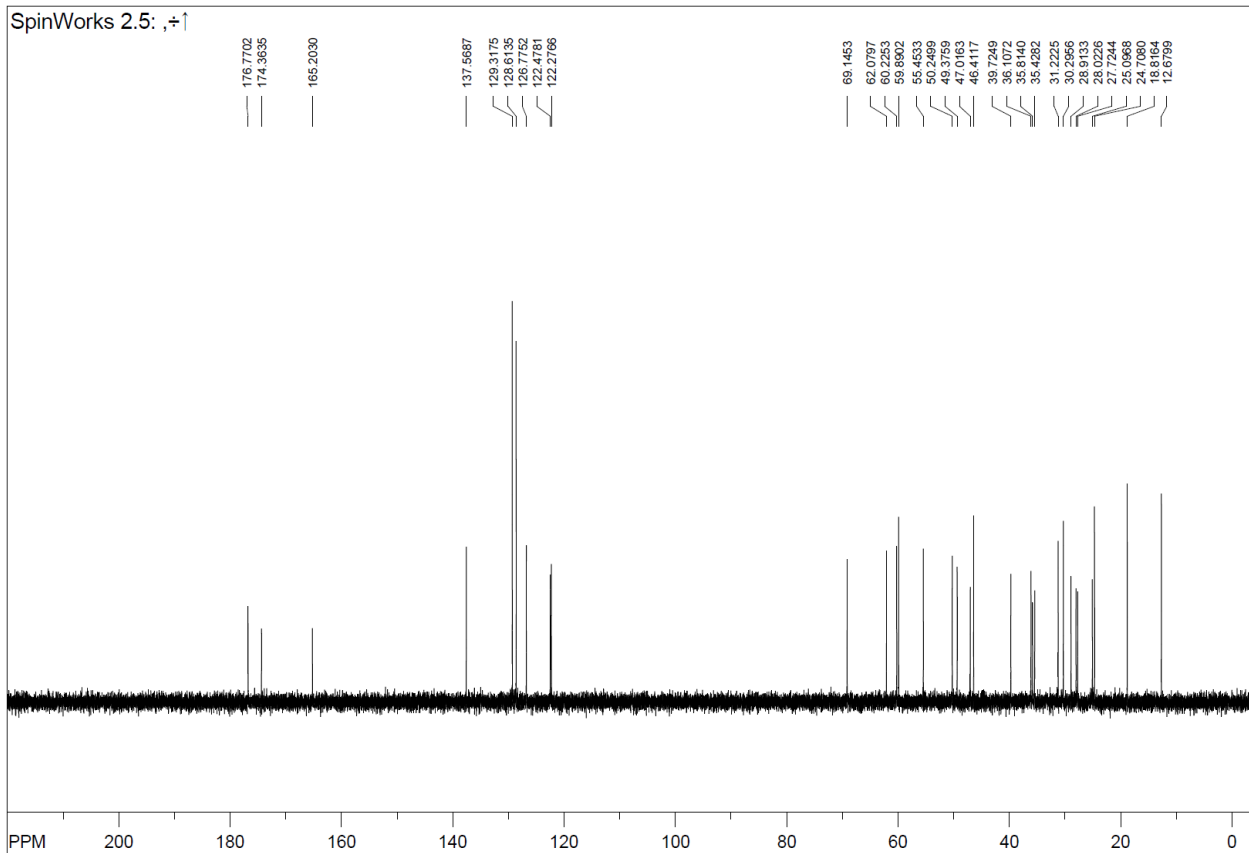
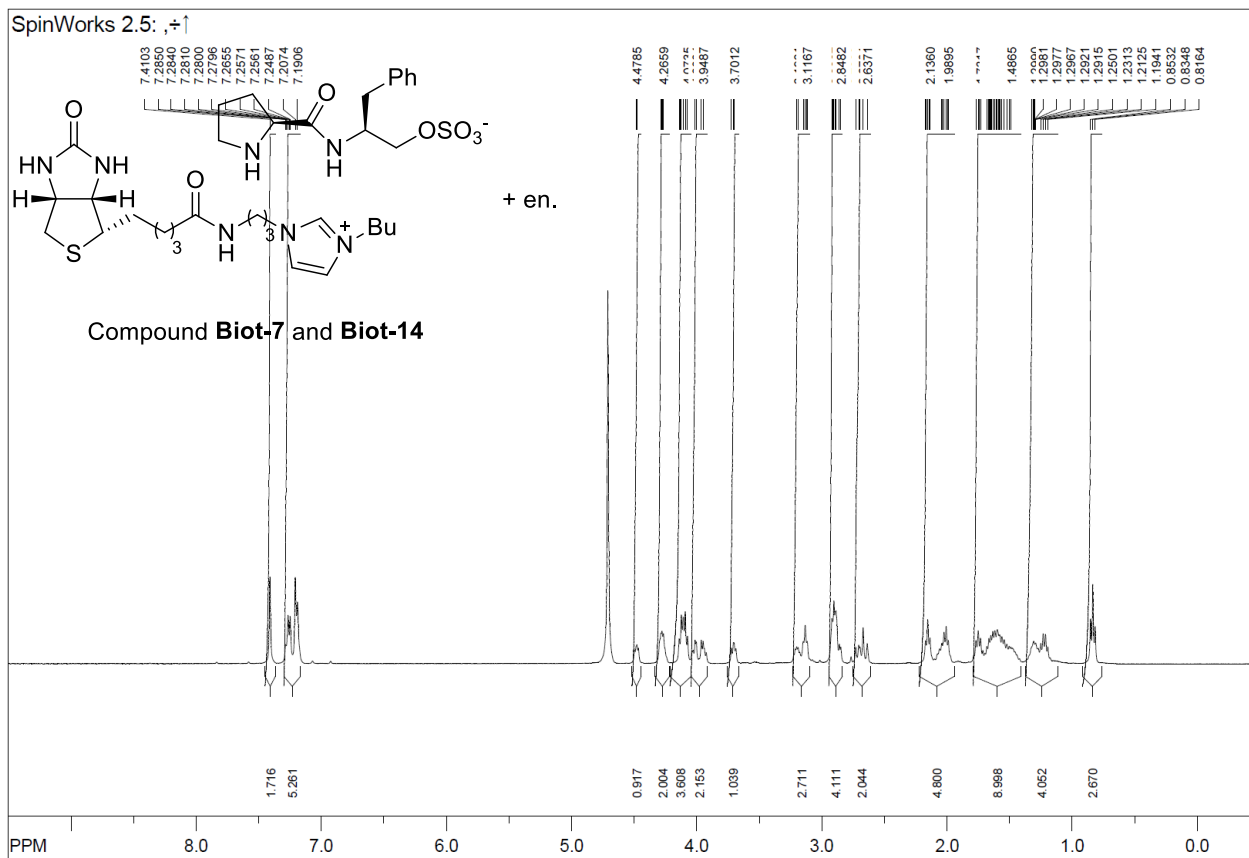


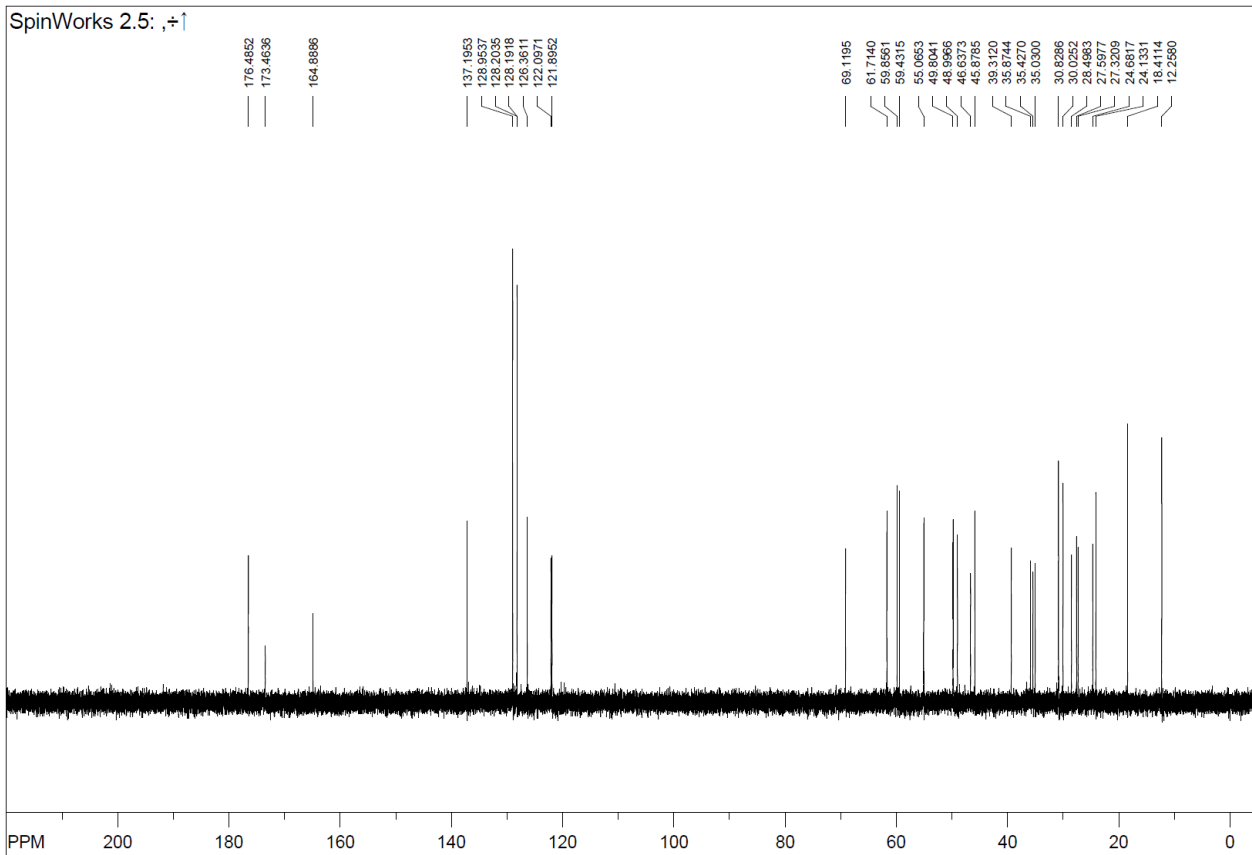
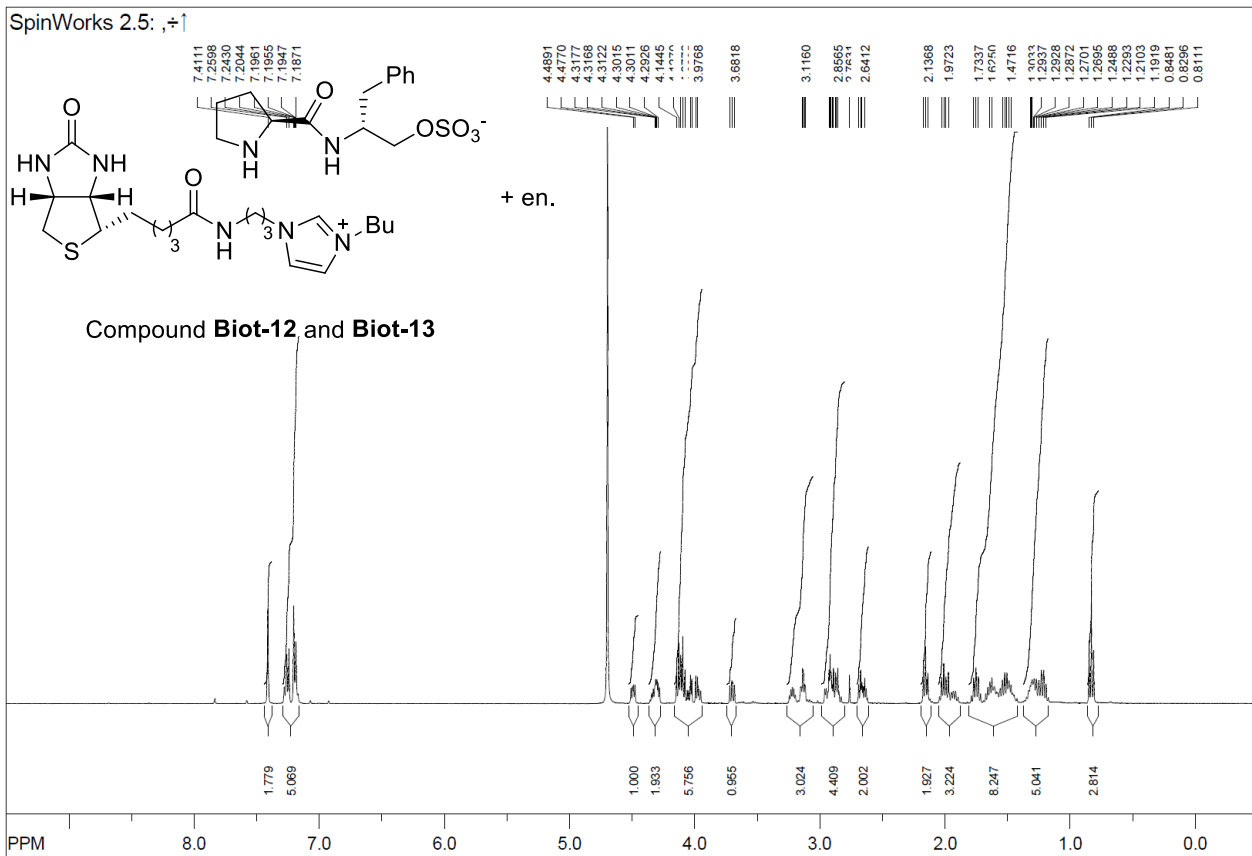


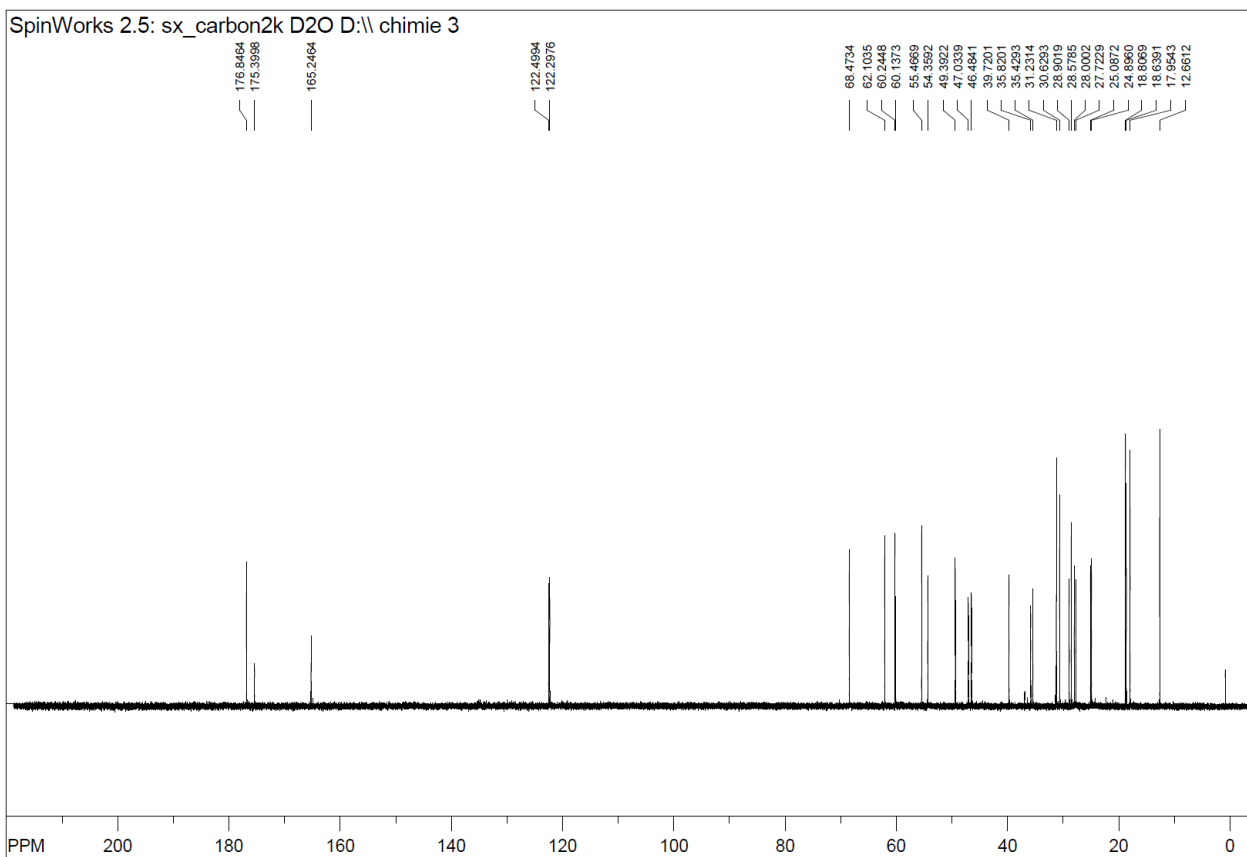
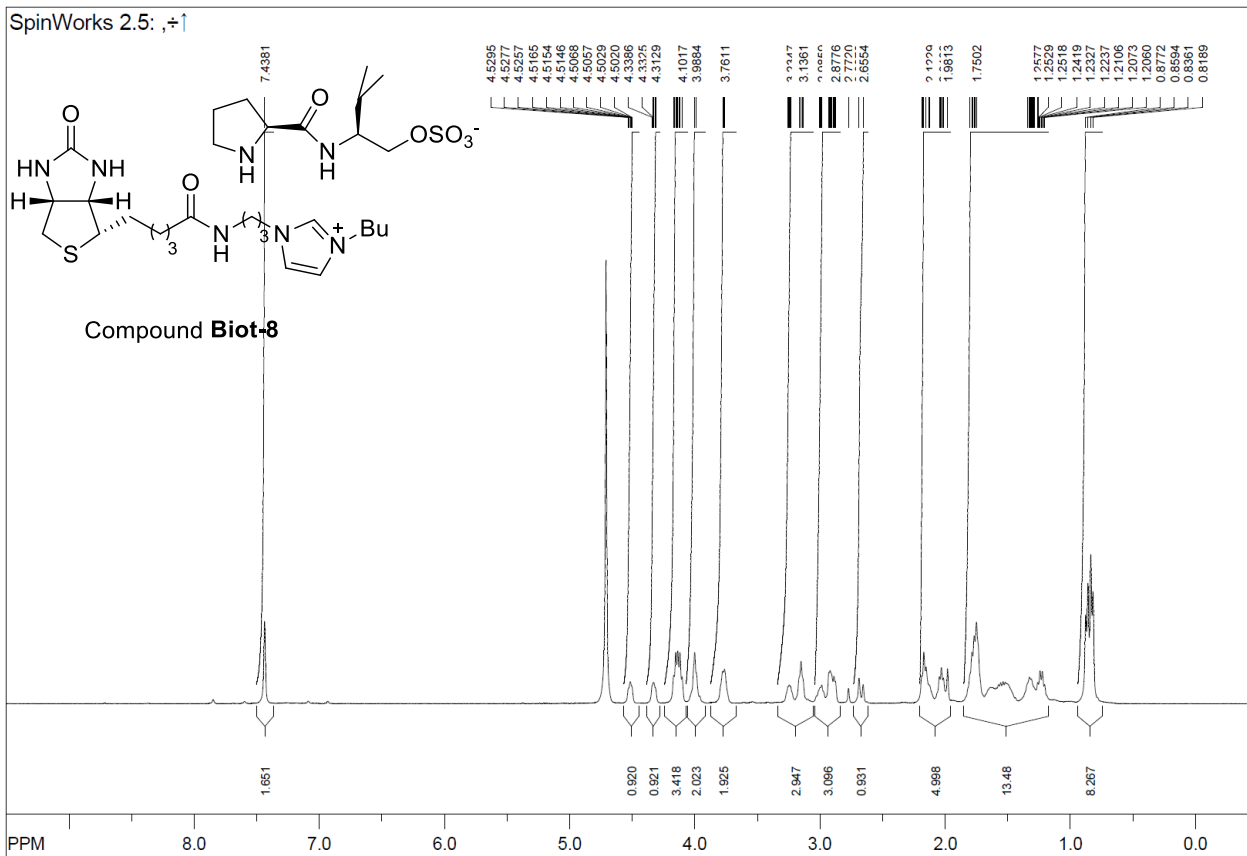


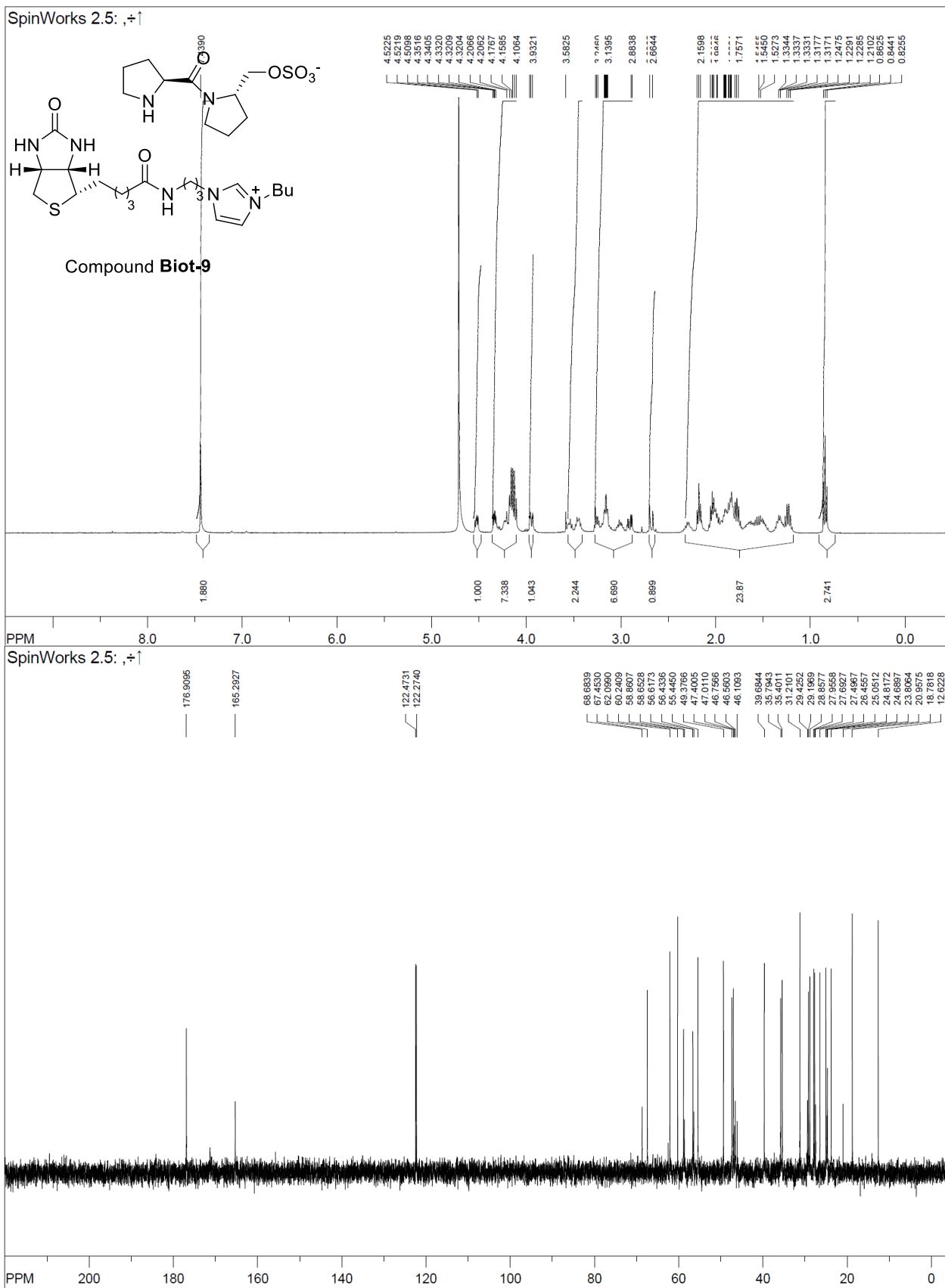




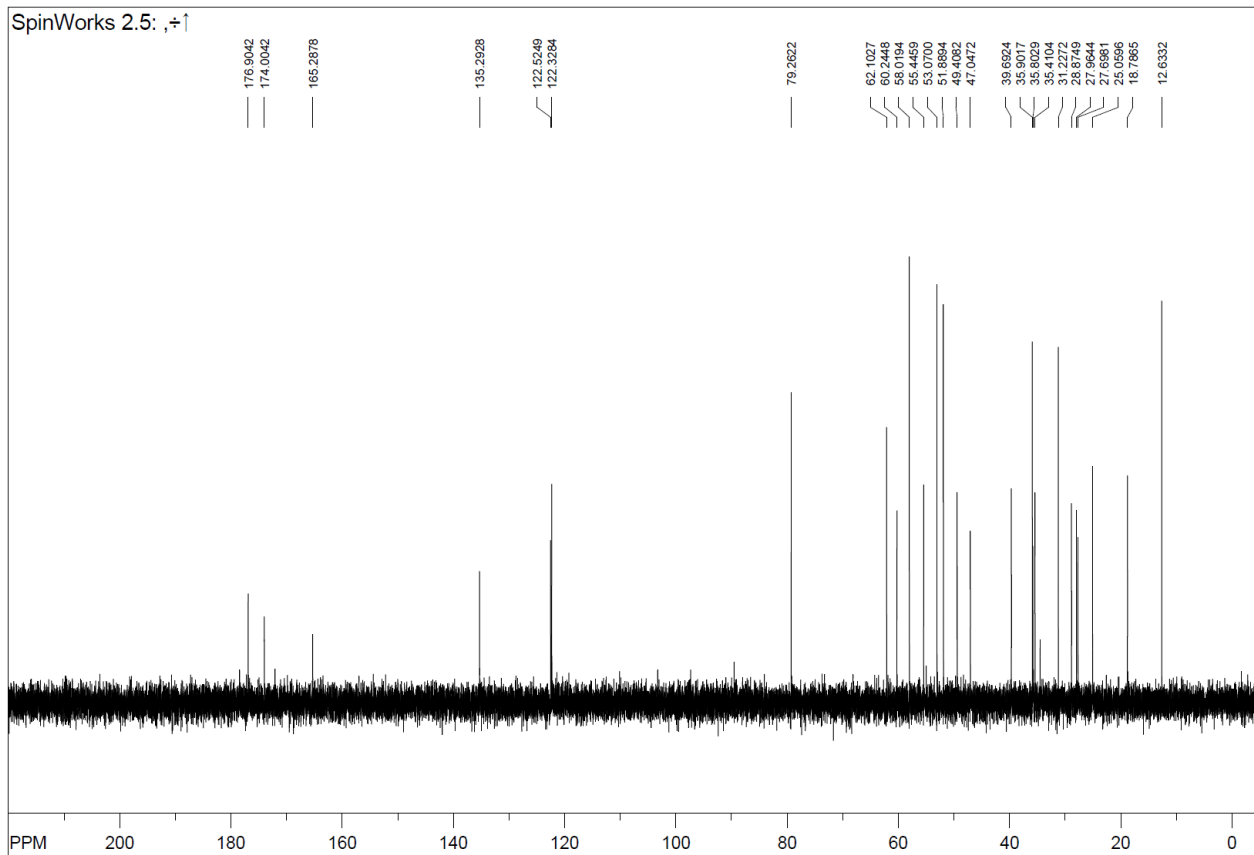
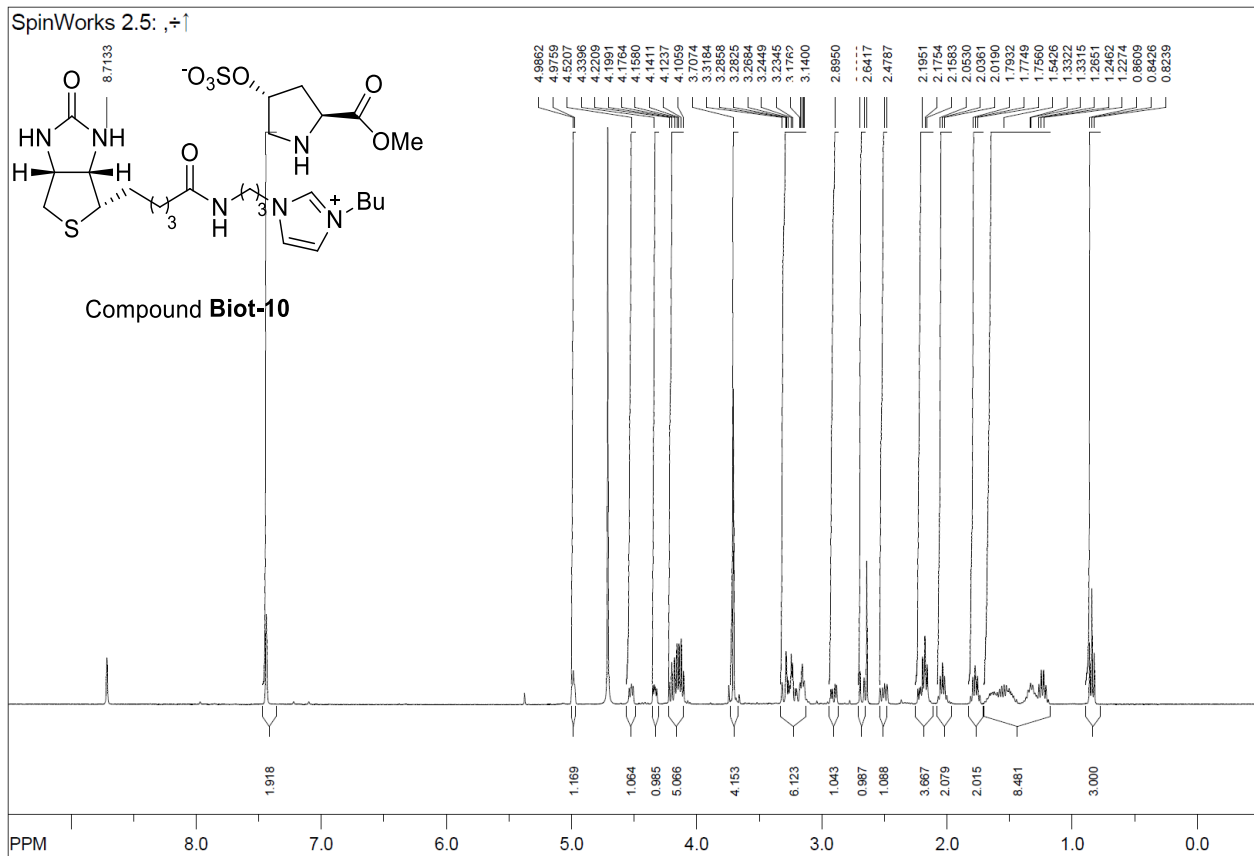


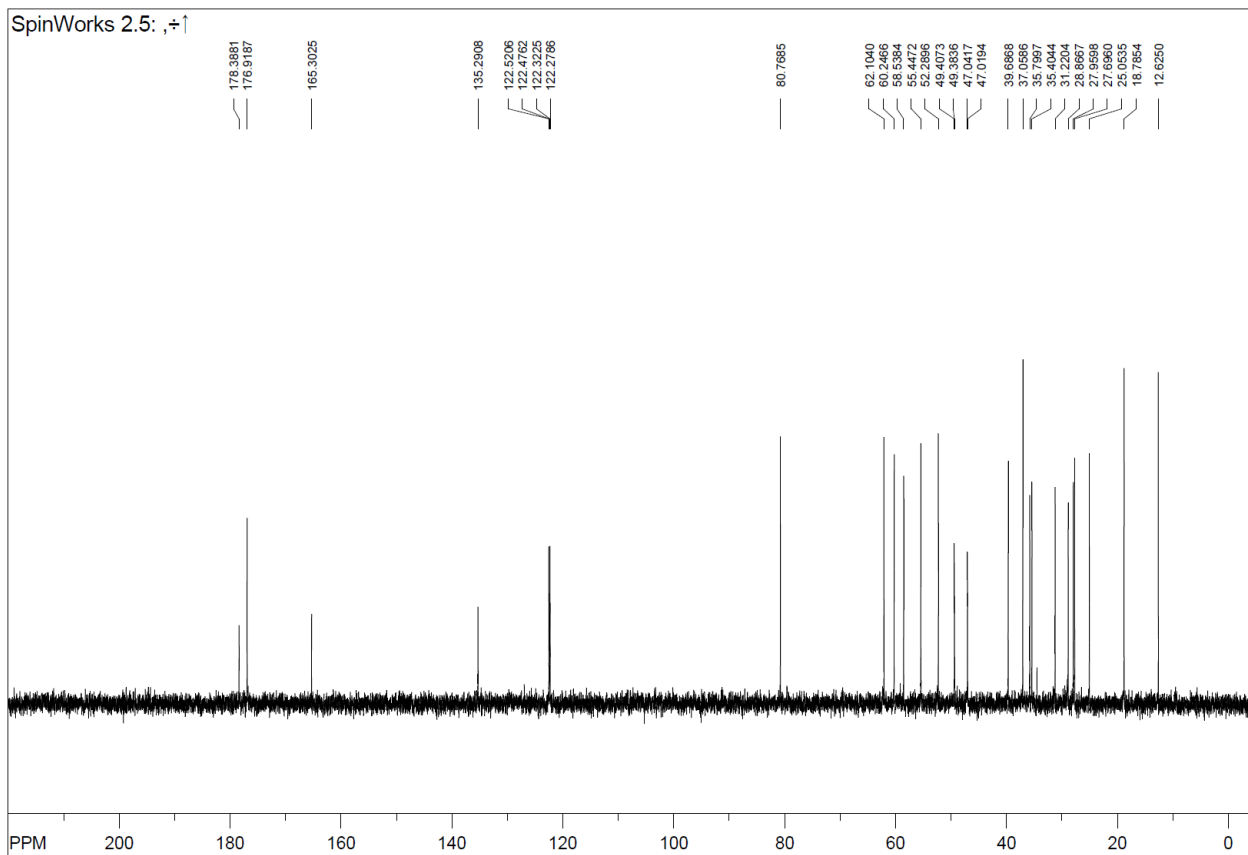
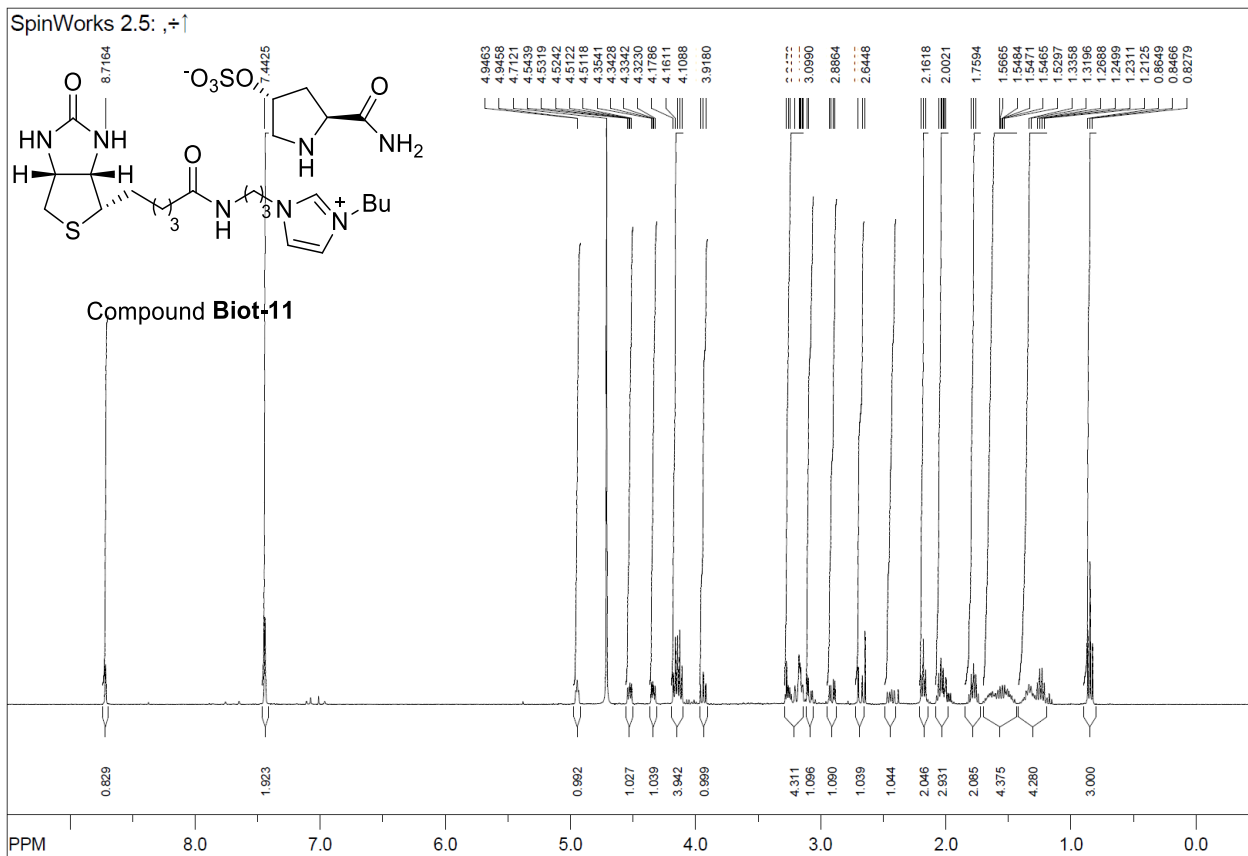












## HPLC Traces

