

## Cinquante nuances de catalyse hybride

**Résumé** La catalyse hybride a émergé il y a une vingtaine d'années. Cette discipline, qui vise à combiner un catalyseur chimique avec un catalyseur biologique afin de produire un système multi-catalytique possédant des propriétés supplémentaires par rapport à celles des catalyseurs unitaires, est longtemps restée peu étudiée car faisant appel à des compétences très diversifiées rarement rassemblées au sein de travaux communs. Ces dernières années, l'accroissement de l'intérêt pour les recherches inter- voire transdisciplinaires a largement bénéficié à son développement et le nombre d'exemples d'applications de la catalyse hybride croît aujourd'hui de manière exponentielle. Historiquement mise au point pour les procédés de résolution cinétique et de déracémisation, elle s'illustre désormais dans de très nombreux domaines, avec des finalités très différentes, depuis la régénération de cosubstrats enzymatiques coûteux, jusqu'à la mise en place de tandems catalytiques intégrés permettant la synthèse de composés jusque-là inaccessibles. Elle bénéficie à ce titre de nombreuses avancées en chimie et biologie/biologie moléculaire, qu'il s'agisse des nouvelles techniques de modélisation ou analytiques, de la possibilité de concevoir de nouveaux catalyseurs plus efficaces et tolérants, ou encore de l'élaboration de dispositifs réactionnels plus performants grâce aux génies des réacteurs et des procédés. Cette importante diversité de catalyseurs et de techniques représente un espoir prometteur pour le renouveau d'une catalyse qui peine souvent à répondre aux défis environnementaux de demain.

**Mots-clés** **Catalyse hybride, résolution cinétique dynamique, régénération de cofacteurs, cosubstrats, réactions multi-catalytiques, diversification des voies de synthèse.**

**Abstract** **Fifty shades of hybrid catalysis**

Hybrid catalysis emerged about twenty years ago. This discipline aims at combining a chemical catalyst with a biological catalyst to produce a multi-catalytic system, with additional properties compared to those of single catalysts, has long remained little studied because it calls on a wide range of skills that are rarely brought together in joint work. In recent years, however, the growing interest in inter- or even transdisciplinary research has greatly benefited its development, and the number of examples of hybrid catalysis applications is now growing exponentially. Historically developed for kinetic resolution and deracemisation processes, hybrid catalysis is now illustrated in many fields, with very different purposes, from the regeneration of costly enzyme co-substrates to the implementation of integrated catalytic tandems allowing the synthesis of previously inaccessible compounds. In this respect, it benefits from numerous advances in chemistry and biology/molecular biology, whether in terms of new modelling or analytical techniques, the possibility of designing new, more efficient and tolerant catalysts, or the development of more efficient reaction devices thanks to reactor and process engineering. This important diversity of catalysts and techniques now represents a promising hope for the renewal of catalysis that is often struggling to meet tomorrow's environmental challenges.

**Keywords** **Hybrid catalysis, dynamic kinetic resolution, cofactor regeneration, cosubstrates, multi-catalytic reactions, synthesis pathway diversification.**

L'article précédent de ce dossier présentait les grandes lignes du concept de catalyse hybride et évoquait les principaux domaines de la catalyse dans lesquels ce concept peut s'appliquer. L'objet du présent article est de proposer des exemples dans chacun de ces domaines avec des réalisations en catalyse hybride afin de montrer les perspectives qu'offre cette approche par rapport aux systèmes multi-catalytiques n'utilisant qu'un seul type de catalyseur.

### Résolution cinétique dynamique et variantes

La première des applications de la catalyse hybride, tant au niveau historique qu'en nombre d'exemples développés, concerne les réactions de résolution cinétique permettant la synthèse de composés optiquement purs. La nécessité de synthétiser ce type de composés s'est en effet très rapidement imposée, tout particulièrement dans le domaine de la pharmacologie [1]. Un grand nombre de molécules bioactives présente des effets radicalement distincts selon l'énantiomère considéré (voir encadré 1).

Les découvertes publiées dans les années 1960 sur le thalidomide (*figure 1*) constituent un exemple très concret de la différence d'action biologique entre deux énantiomères. En raison de sa forte activité sédatrice et anti-vomissement, ce médicament était largement prescrit pour le traitement des nausées matinales pendant la grossesse. Cependant, seul l'énantiomère *R* présente l'effet désiré tandis que l'énantiomère *S* est tératogène, provoquant de graves malformations chez le fœtus [2].

C'est suite à ce scandale sanitaire que l'attention portée à la chiralité des molécules synthétisées a réellement pris son essor. De nombreuses stratégies permettant la synthèse d'un énantiomère sous forme pure ont depuis lors été mises au point, et parmi elles figurent la résolution cinétique (« kinetic resolution », KR) et la résolution cinétique dynamique (« dynamic kinetic resolution », DKR). Contrairement à la résolution chirale qui repose sur des différences physiques entre des diastéréoisomères et permet la mise en place de procédés de séparation physique, la résolution cinétique repose sur le fait que deux énantiomères réagissent

### Encadré 1

Deux molécules sont appelées *énantiomères* lorsqu'elles sont l'image l'une de l'autre dans un miroir plan, mais non superposables (telles les mains).

Une molécule pouvant se trouver sous deux formes énantiomères est dite *chirale*. La chiralité d'une molécule peut être due à la présence d'un centre stéréogène (carbone asymétrique, etc.), d'un axe ou d'un plan de chiralité.

Les deux énantiomères ont des propriétés physico-chimiques identiques, les rendant inséparables sans transformation préalable ou utilisation d'un catalyseur lui aussi chiral. Cependant, il est possible de les distinguer, par exemple, en les faisant traverser par de la lumière polarisée : suivant l'énantiomère considéré, le plan de polarisation du rayon incident sera dévié dans un sens ou dans l'autre, avec un angle propre à chaque molécule.

Lorsque les deux énantiomères d'une même molécule sont en mélange équimolaire, on parle alors de *mélange racémique*, et ce dernier ne dévie plus le plan de polarisation. C'est pourquoi chaque énantiomère est qualifié d'optiquement pur. L'énantiomère qui dévie le plan de polarisation vers la gauche (sens antihoraire) est dit *lévogyre*, alors que celui qui dévie le plan vers la droite (sens horaire) est dit *dextrogyre*. Ajoutons que dans le cas où une molécule posséderait plus d'un centre asymétrique, ses différents stéréoisomères sont alors appelés *diastéréoisomères*.

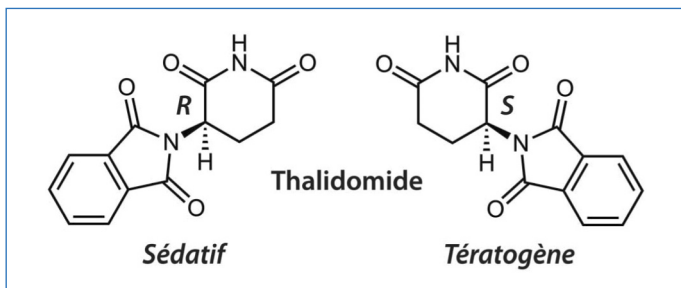


Figure 1 - Les deux énantiomères du thalidomide. L'énantiomère de configuration *R* est utilisé en pharmacologie pour ses propriétés sédatives et antiémétiques, alors que l'énantiomère *S* est tératogène.

avec des vitesses différentes lorsqu'ils sont mis en présence d'un catalyseur ou réactif chiral. Dans le cas où cette vitesse est nettement supérieure pour l'un des deux énantiomères (typiquement d'au moins un ordre de grandeur), il est alors possible de ne transformer sélectivement qu'un énantiomère, de manière à pouvoir le séparer de l'autre. Ce type de réaction a été mis en évidence pour la première fois par Louis Pasteur, qui a observé que le produit de la fermentation d'une mixture racémique était majoritairement lévogyre.

Ainsi, historiquement, ces réactions ont très tôt bénéficié de l'utilisation des enzymes, ces dernières étant particulièrement énantiospécifiques comme évoqué dans l'article précédent. Cependant, par définition, leur rendement reste limité à la concentration en énantiomère non transformé, soit 50 % (rendement théorique maximal dans ce cas). C'est afin de lever ce verrou que le concept de DKR a été mis au point. Lors des réactions en DKR, l'énantiomère non transformé par le premier catalyseur est constamment racémisé par un second catalyseur pour régénérer l'autre énantiomère, qui sera ensuite converti. Cette seconde étape permet alors de retransformer en continu l'énantiomère non recherché en l'énantiomère voulu, et ainsi d'atteindre théoriquement des rendements proches de 100 % (figure 2). Une variante, appelée déracémisation cyclique (« cyclic deracemisation », CD), décrit une réaction similaire dans laquelle le second catalyseur n'agit pas sur l'énantiomère restant, mais sur le produit de la première étape catalytique, qui est souvent une molécule achirale dans ce cas. À l'inverse de la DKR qui aboutit à la formation d'un nouveau produit, cette méthode est efficace pour la déracémisation d'un mélange racémique, en libérant un seul des deux énantiomères du substrat à la fin du processus. Une troisième variante de cette stratégie, appelée recyclage des énantiomères mineurs (« minor enantiomer recycling », MER), a été proposée par Moberg et décrit des

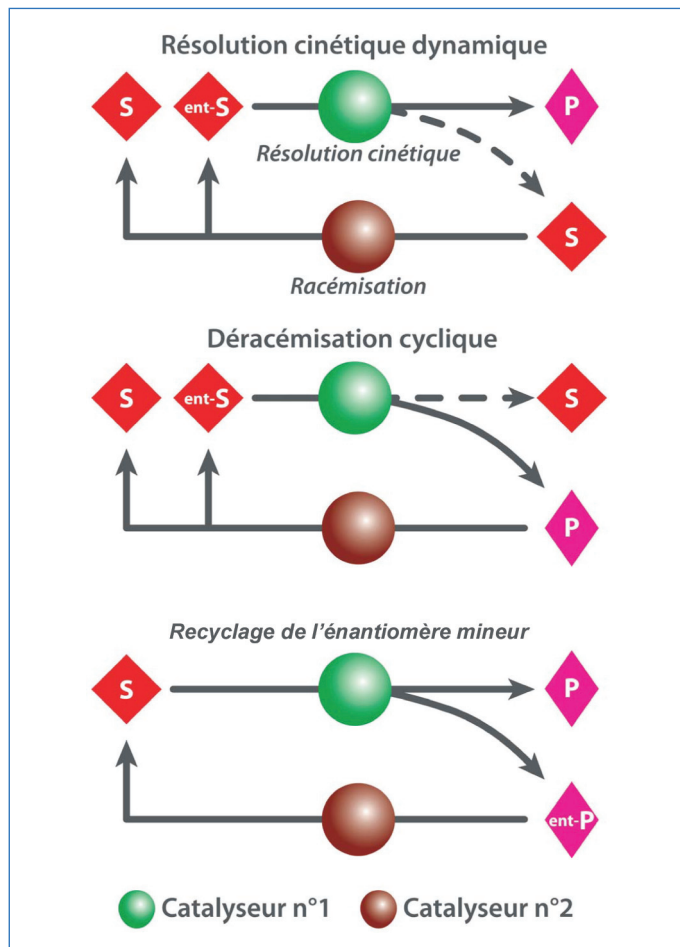


Figure 2 - Résolution cinétique dynamique d'un mélange racémique de substrats (S) en un produit (P) à l'aide de deux catalyseurs (figure adaptée d'après Heuson et Dumeignil [3]). S : substrat ; ent-S : autre énantiomère du substrat ; P : produit ; ent-P : autre énantiomère du produit.

réactions impliquant cette fois la conversion par un premier catalyseur d'un substrat achiral en un mélange d'énantiomères [4-6]. Après cette première étape, le produit énantiomère non recherché, appelé énantiomère mineur, est reconverti en substrat achiral. Cette stratégie bénéficie souvent d'un couplage avec des réactions parallèles thermodynamiquement favorables qui permettent un déplacement de l'équilibre réactionnel. Alors que les deux premières stratégies (DKR et CD) visent à augmenter la chiralité dans les systèmes où elle est déjà présente, cette troisième présente l'avantage d'introduire de nouveaux centres chiraux avec des excès énantiomériques proches de 100 %.

Il est toutefois important de préciser que l'étape de racémisation nécessite bien souvent des conditions catalytiques particulières, et les chimistes se sont rapidement aperçu que plusieurs complexes de métaux de transition tels que le rhodium, le ruthénium et l'iridium peuvent s'avérer efficaces pour effectuer ce type d'opération dans des conditions douces, en particulier dans le cas de la racémisation d'amines [7-8]. Aussi, afin de profiter à la fois de l'énantiosélectivité des enzymes et de la capacité de racémisation des catalyseurs métalliques, des exemples de couplages hybrides ont vu le jour dès le début des années 2000. Ce sujet est désormais très bien documenté, et parmi les nombreuses enzymes qui ont été appliquées aux DKR, les lipases (voir encadré 2) constituent très certainement le groupe le plus répandu [9]. De manière générale, cette famille d'enzymes, qui catalyse l'hydrolyse ou la formation d'esters organiques, est dominante tant au niveau des procédés industriels existants que des nouveaux procédés hybrides décrits jusqu'alors [10]. Ceci est principalement dû à leur très grande résistance aux solvants organiques, mais aussi à leur thermostabilité qui peut parfois atteindre la centaine de degrés Celsius (enzymes thermophiles voire hyperthermophiles, voir encadré 3).

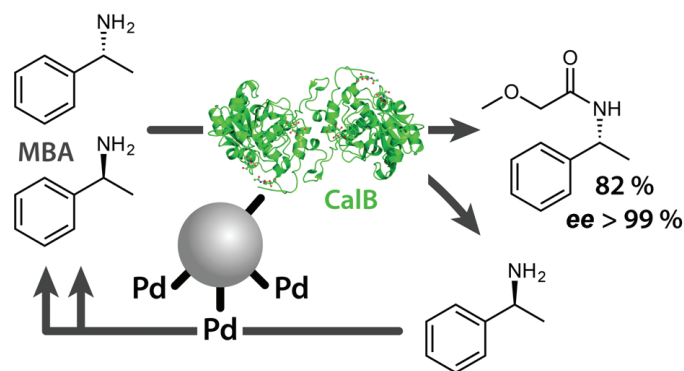


Figure 3 - Déracémisation de l' $\alpha$ -méthylbenzylamine (MBA) à l'aide d'un catalyseur combinant la lipase B de *Candida antarctica* (CalB) et des nanoparticules de palladium immobilisées sur billes de silice. Lorsque l'acide 2-méthoxyéthanoïque est ajouté comme substrat de l'enzyme, ce procédé de résolution cinétique dynamique aboutit à la production de *(R)*-2-méthoxy-*N*-(1-phényléthyl)acétamide avec un rendement de 82% et un excès énantiomérique (*ee*) > 99%.

de l' $\alpha$ -méthylbenzylamine (MBA) impliquant habituellement plusieurs catalyseurs dans des étapes séparées, ou à des concentrations plus élevées (figure 3). Un excès énantiomérique final supérieur à 99% à 82% de conversion avec 1% massique de palladium a été mis en évidence, aboutissant à une productivité de  $2,21 \text{ mg h}^{-1}$  par mg de support contre  $0,76 \text{ mg h}^{-1}$  avec la lipase commerciale habituelle, la Novozyme 435°. Par ailleurs, ce nouveau catalyseur hybride dénote d'une charge protéique quinze fois plus faible et d'une activité supérieure à celle des solutions commerciales actuelles, démontrant un intérêt notable pour des applications industrielles. Notons que le même procédé a été étudié par les auteurs avec des nanoparticules de palladium cette fois immobilisées sur un support séparé, et l'excès énantiomérique observé était inférieur. Ceci démontre parfaitement le potentiel de la catalyse hybride pour la création d'effets de synergie entre des centres catalytiques disposés à proximité.

### Régénération de cosubstrats

Si elle est remarquable en synthèse, la synergie bio/chémo peut aussi s'avérer essentielle pour la régénération des *cofacteurs* des réactions enzymatiques, ou plutôt de leurs *cosubstrats* (voir encadré 4). Bon nombre d'enzymes nécessitent en effet une espèce chimique supplémentaire afin de pouvoir catalyser leur réaction.

Au niveau naturel, ces cosubstrats sont régénérés au sein de la cellule par quantité de réactions parallèles mais, dans le cas des procédés chimiques, une stratégie dédiée doit être mise en place. S'il est possible d'utiliser une autre enzyme pour

#### Encadré 4

Originellement, l'appellation *cofacteur* désigne des molécules non protéiques nécessaires à l'activité d'une enzyme et qui, faisant partie du système catalytique, se régénèrent au cours de la réaction. Par abus de langage, ce terme englobe également d'autres molécules aux fonctions similaires mais qui ne sont pas automatiquement régénérées.

NADH et  $\text{FADH}_2$ , par exemple, sont souvent qualifiés de cofacteurs mais sont plutôt *stricto sensu* des *cosubstrats*. Leur coût étant élevé, on préférera alors les régénérer plutôt que d'en envisager l'utilisation en quantités stœchiométriques. Leur régénération nécessite des étapes additionnelles, qu'il est ainsi nécessaire de réaliser pour déverrouiller les cycles catalytiques correspondants.

#### Encadré 2

Les *lipases* sont des enzymes hydrolytiques présentes dans divers organismes, notamment les animaux, les plantes, les champignons et les bactéries. Elles sont chargées de réaliser l'estérification ou la transestérification des acides gras, ou encore leur hydrolyse suivant l'activité de l'eau, et sont à ce titre très utiles pour les industries pétrolières et agroalimentaires.

L'activité de l'eau est, dans ce cadre, une notion qui décrit la quantité d'eau disponible dans un échantillon pour réaliser des réactions. Ainsi, un échantillon peut contenir une grande quantité de molécules d'eau sans que celles-ci ne puissent réagir avec les espèces chimiques en présence, et l'hydrolyse n'a alors pas lieu.

#### Encadré 3

Sont dits *thermophiles* les organismes ayant besoin d'une température élevée, généralement comprise entre 50 et 70 °C, pour pouvoir croître et se multiplier. Certains organismes requièrent des températures encore supérieures, allant de 80 °C à plus d'une centaine de degrés ; ils sont alors qualifiés d'*hyperthermophiles*.

À l'inverse, les organismes qui nécessitent des températures inférieures à 10 °C (jusqu'à -12 °C) sont qualifiés de *psychrophiles*.

Suivant leurs températures optimales de croissance, ces organismes vont produire dans une certaine mesure des enzymes possédant des tolérances à des températures similaires.

Ajoutons qu'une partie importante d'entre elles a rapidement pu être immobilisée pour en permettre le recyclage. De par leurs propriétés, les lipases se rapprochent de nombreux catalyseurs chimiques travaillant en solvants organiques à relativement haute température, ce qui les rend particulièrement compatibles pour les procédés catalytiques hybrides. Nous ne citerons donc pas ici tous les exemples de réalisations hybrides impliquant des lipases, mais nous pouvons mentionner le procédé récemment développé par une partie des auteurs de cet article, dans lequel la lipase B de *Candida antarctica* (CalB) a été immobilisée par liaison covalente sur de la silice fonctionnalisée pourvue de nanoparticules palladium supportées [11]. La création de ce matériau multi-catalytique a permis de simplifier la résolution cinétique dynamique

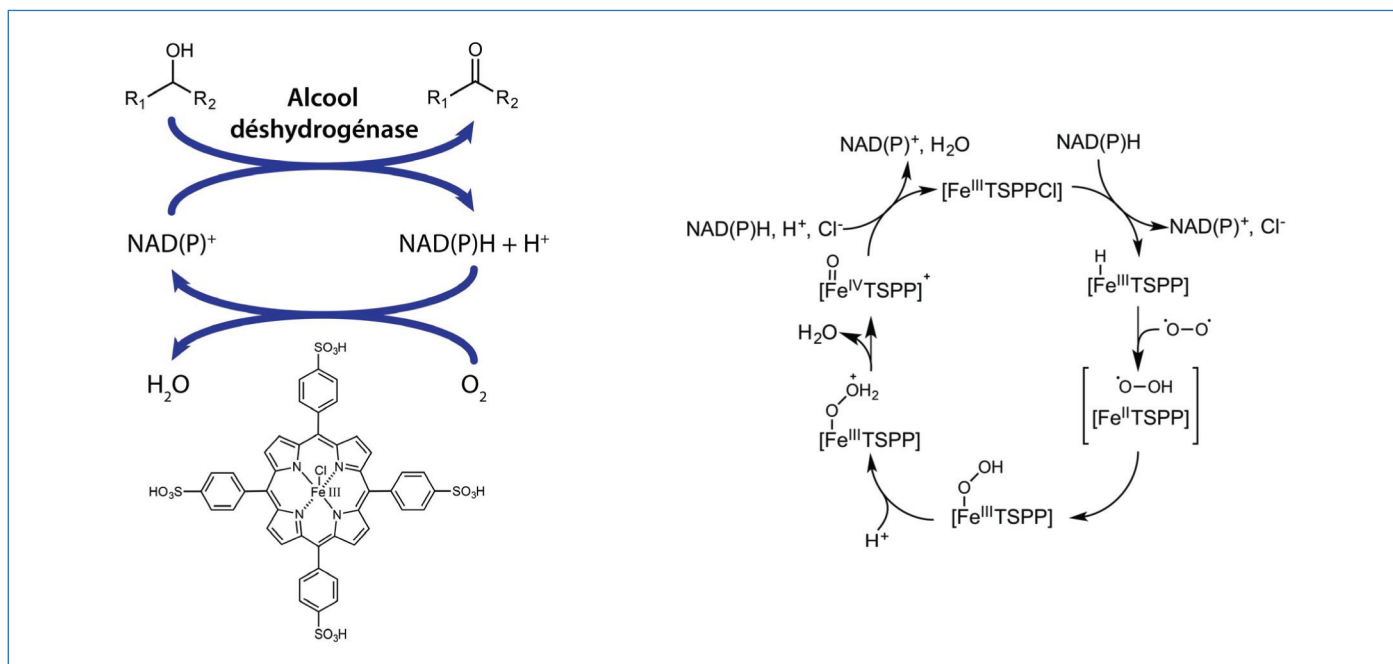


Figure 4 - Méthodologie proposée par Gröger pour la régénération du cosubstrat NAD(P)<sup>+</sup> basée sur l'utilisation d'une porphyrine de fer(III), dans le cadre de l'utilisation d'une alcool déshydrogénase. Le complexe organométallique utilise le dioxygène solubilisé dans le milieu réactionnel pour effectuer l'oxydation du NAD(P)H selon un mécanisme en six étapes [12].

effectuer cette étape en mimant ce qui se produit au niveau cellulaire, l'utilisation d'un catalyseur chimique peut s'avérer très avantageuse car ces derniers sont souvent plus stables, moins coûteux, recyclables, et susceptibles de ne pas être inhibés par les substrats et produits de l'enzyme. Cependant, si l'on trouve une littérature assez variée mais au demeurant peu abondante concernant la régénération chimique de cofacteur en tant que telle, les exemples de régénération lors d'une réaction enzymatique restent encore extrêmement rares. L'équipe de Gröger a été parmi les premières à proposer une régénération de cosubstrats assistée par un catalyseur chimique lors d'une réaction enzymatique. Dans un exemple pionnier [12], ces auteurs utilisent une porphyrine de fer(III) (sulfonée afin d'améliorer sa solubilité en phase aqueuse) afin de régénérer le NAD(P)<sup>+</sup> nécessaire à la transformation d'un alcool secondaire en cétone correspondante par une alcool déshydrogénase.

Les auteurs proposent le mécanisme suivant (figure 4) : un complexe d'hydrure de fer(III) NAD(P)H est formé à partir de la métalloporphyrine et de la forme réduite du cofacteur. Il est ensuite transformé en complexe hydroperoxy de fer par coordination et réduction d'oxygène moléculaire. Cette étape semble pouvoir se dérouler par clivage homolytique de la liaison Fe-H dans la formation du complexe, qui se compose d'une espèce de Fe(II) et d'un radical hydroperoxy. Après protonation et élimination de l'eau (analogue au mécanisme observé pour les monooxygénases P450), le complexe peroxy de fer formé est transformé en espèce oxo de Fe(IV). L'étape finale consiste en la régénération de l'espèce initiale de porphyrine de Fe(III) avec libération d'une molécule d'eau. Une telle exécution permet de s'affranchir de l'utilisation d'une NDA(P)H-oxydase, coûteuse et plus complexe à mettre en œuvre, pour l'étape de régénération du cosubstrat en la substituant par un catalyseur chimique beaucoup moins complexe à produire et plus simple d'utilisation (porphyrine). Les auteurs du présent dossier ont également utilisé le même type de stratégie dans le but d'optimiser la réaction de conversion du D-glucose en 5-hydroxyméthylfurfural (HMF). Le HMF

est une molécule plateforme ouvrant la voie à la synthèse de nombreux composés possédant des applications dans les domaines des biocarburants, des biopolymères ou encore concernant tout un pan de la chimie fine, faisant d'elle l'une des molécules plateformes les plus étudiées. À l'heure actuelle, la manière la plus simple et la plus productive de synthétiser du HMF passe par la déshydratation catalytique du D-fructose, un hexocétose isomère du D-glucose. Le D-glucose peut, quant à lui, être obtenu de manière biosourcée à partir de la biomasse lignocellulosique dont il est l'un des constituants majeurs. Aussi, pour obtenir du HMF à partir de D-glucose, il convient en premier lieu de procéder à l'isomérisation de ce dernier afin d'obtenir le D-fructose. Cette réaction souffre cependant d'un équilibre thermodynamique peu favorable qui aboutit à la présence des deux sucres en quantités quasi équivalentes. L'isomérisation chimique quantitative du glucose en fructose a, à ce titre, déjà fait l'objet de nombreuses études sans toutefois permettre d'atteindre une sélectivité suffisamment satisfaisante. Une stratégie efficace consiste alors à effectuer l'isomérisation à l'aide d'une enzyme, une glucose isomérase, et à coupler cette dernière à l'étape de déshydratation chimique, permettant de tirer l'équilibre réactionnel selon un procédé catalytique hybride. Plusieurs tentatives ont déjà été réalisées dans cette optique, et nous en présenterons deux, l'une impliquant une étape d'isomérisation hybride (voir ci-après) et l'autre impliquant une compartimentation décrite dans la partie suivante (§ « Diversification des voies de synthèse »).

Concernant la première variante basée sur une étape d'isomérisation hybride, le D-glucose est d'abord hydrogéné en D-sorbitol, ce dernier étant ensuite déshydrogéné sélectivement en D-fructose par voie biocatalytique. Or l'enzyme utilisée ici, la sorbitol déshydrogénase, requiert l'utilisation de NAD<sup>+</sup> comme cosubstrat pour effectuer la réaction, ce dernier devant alors être régénéré tout au long de la réaction à partir du NADH formé, comme évoqué précédemment. Pour cela, une partie des auteurs de cet article ont mis en œuvre et caractérisé l'action d'un catalyseur chimique basé sur un



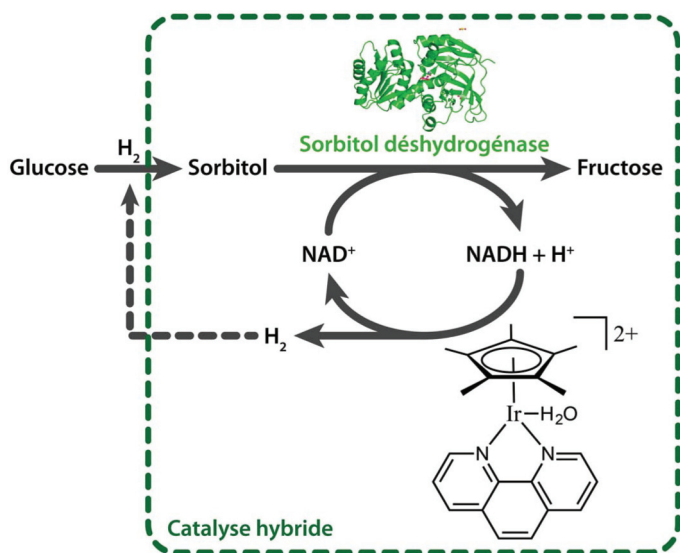


Figure 5 - Système catalytique hybride permettant la régénération de NAD<sup>+</sup>, cosubstrat de la sorbitol déshydrogénase utilisée pour transformer le sorbitol en fructose. Dans ce procédé, NADH est réoxydé en NAD<sup>+</sup> à l'aide d'un complexe d'iridium. Le dihydrogène libéré durant la réaction peut alors être utilisé pour l'étape réactionnelle précédente, mettant en jeu la conversion du glucose en sorbitol.

complexe d'iridium, qui permet de convertir efficacement NADH en NAD<sup>+</sup> + H<sub>2</sub> (figure 5).

Ce catalyseur s'est montré assez inerte vis-à-vis de l'enzyme, permettant de régénérer NAD<sup>+</sup> *in situ* en présence de l'étape biocatalytique en limitant la dégradation des substrats et produits. Ces travaux ont déjà fait l'objet de plusieurs publications, mais des résultats plus récents ont permis de montrer que le système complet (substrat + cofacteur + enzyme + complexe organométallique) était en mesure de fonctionner pour la synthèse du D-fructose à partir de D-sorbitol, et que le catalyseur chimique permet au moins trois cycles catalytiques consécutifs. Cependant, les pH optimaux des deux catalyseurs n'étant pas identiques, il reste un travail conséquent à effectuer avant de pouvoir mettre au point le procédé complet. Au vu de ces premiers résultats, le principal avantage de cette stratégie, outre la réduction du coût en cosubstrat, réside dans le fait qu'elle génère du dihydrogène comme coproduit, ce dernier pouvant être récupéré sous pression réduite afin de déplacer l'équilibre de l'isomérisation. Notons que l'hydrogène produit est également utilisable pour la réduction préliminaire du D-glucose en D-sorbitol (figure 4). Ce type de réalisation démontre bien l'intérêt de la catalyse hybride pour la régénération de cosubstrats, et plus largement pour l'obtention de meilleurs rendements en s'affranchissant d'équilibres réactionnels.

### Diversification des voies de synthèse

Ces stratégies de déracémisation ou de recyclage de cosubstrats peuvent ensuite être combinées à d'autres stratégies de catalyse hybride permettant d'étendre la diversité des voies de synthèse, et donc la diversité des composés synthétisés. Comme détaillé dans le précédent article de ce dossier, il n'existe cependant pas une unique approche pour effectuer la combinaison de deux catalyseurs de natures différentes. Chacune d'entre elles présente un lot d'avantages et d'inconvénients qui imposent la nature des substrats sur lesquels elles sont applicables ainsi que les (nouveaux) composés qu'elles permettent d'atteindre.

### Rapprochement des catalyseurs par génie des procédés

La première approche qui s'offre alors consiste, comme évoqué plus haut, à jouer sur le procédé catalytique de manière « physique » en réalisant des procédés en 2P1S (voir encadré 5). Regroupant les domaines de la chimie des interfaces et du génie des procédés/des réacteurs, cette stratégie consiste dans la plupart des cas à séparer les deux catalyseurs dans deux zones distinctes, départagées par une membrane (« compartimentation »). On pourra par exemple citer les membranes liquides qui ne laissent passer que certains composés chimiques d'une zone à l'autre, ou encore tous les types de membranes solides qui permettent une compartimentation au sein d'un même réacteur (membranes cellulaires, polymères, etc.). Ainsi, de manière générale, cette stratégie suit un schéma où chaque étape de la réaction est réalisée dans un environnement différent, mais en tandem pour que la transformation se fasse directement du réactif au produit souhaité.

#### Encadré 5

Les procédés en « two-pots/one-step » (2P1S) sont mis en œuvre dans un même récipient, à l'aide de systèmes de séparation comme des membranes liquides ou solides. Ainsi, dans la mesure où ces procédés décrivent des réactions réalisées de manière concomitante dans des milieux réactionnel différents, ils ne doivent pas être confondus avec les procédés en « one-pot/one-step » (1P1S) qui, eux, décrivent l'action concomitante de plusieurs catalyseurs au sein d'un même milieu réactionnel.

À l'instar de la catalyse hybride en général, les premiers exemples de nouveaux procédés de ce type ont été mis au point afin d'améliorer les réactions de déracémisation, telles que précédemment décrites. On peut citer un premier exemple mettant en œuvre la combinaison d'une monoamine oxydase et de nanoparticules de palladium pour effectuer la déracémisation cyclique de la 1-méthyltétrahydroisoquinoline (MTQ). La (S)-MTQ est oxydée sélectivement en présence d'oxygène par la monoamine oxydase, afin de former de la 1-méthyl-3,4-dihydroisoquinoline (MDQ), qui est ensuite réduite en présence d'hydrogène pour conduire à la formation du mélange racémique, enrichissant de ce fait la solution en l'autre énantiomère. Les deux catalyseurs intervenant dans deux étapes séparées dans des conditions opératoires très différentes, Turner *et coll.* ont utilisé la membrane de la cellule hôte responsable de la production de l'enzyme comme séparation physique entre ces derniers (figure 6) [13]. La nécessité d'isoler l'enzyme du catalyseur chimique provient de sa sensibilité à la présence d'hydrogène lors des cycles d'hydrogénation et du fait qu'elle est inhibée au contact des nanoparticules métalliques. De manière intéressante, afin de proposer un catalyseur unique, les nanoparticules sont immobilisées sur la membrane de la cellule. Le système est alors mis en œuvre sous la forme de cycles oxygénation/hydrogénation de manière à ce que le composé gazeux nécessaire à chaque étape puisse être éliminé avant la suivante afin de ne pas la perturber. Cette stratégie permet d'obtenir la (R)-MTQ avec un excès énantiomérique supérieur à 96 % après cinq cycles.

Sans cette mise en œuvre, la déracémisation est impossible. Toutefois, l'utilisation de cellules entières ou microorganismes présente généralement l'inconvénient d'apporter des contaminations dans le milieu dues à la présence des nutriments nécessaires à leur action. La recherche d'autres types de membranes présente donc un intérêt certain dans le cas de

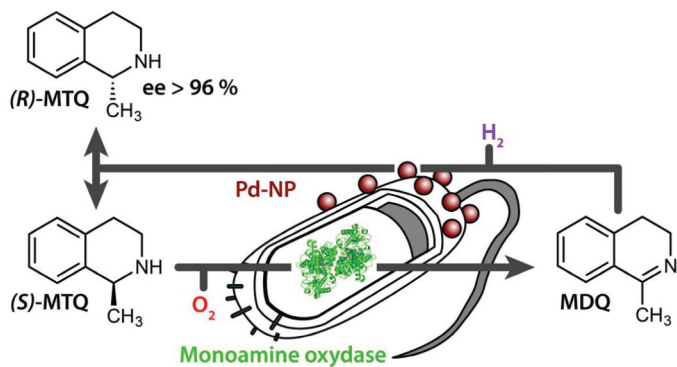


Figure 6 - Stratégie de décarboxylation de la 1-méthyl-tetrahydroquinoline (MTQ) basée sur le couplage d'une monoamine oxydase, oxydant la (S)-MTQ en 1-méthyl-3,4-dihydroquinoline (MDQ), avec des nanoparticules de palladium (Pd-NP) chargées de décarboximer la MDQ par hydrogénation réductrice. Pour ce procédé, l'enzyme est encapsulée dans la membrane plasmique de la bactérie, alors que le catalyseur chimique est greffé sur la surface de cette dernière (figure adaptée de [13]).

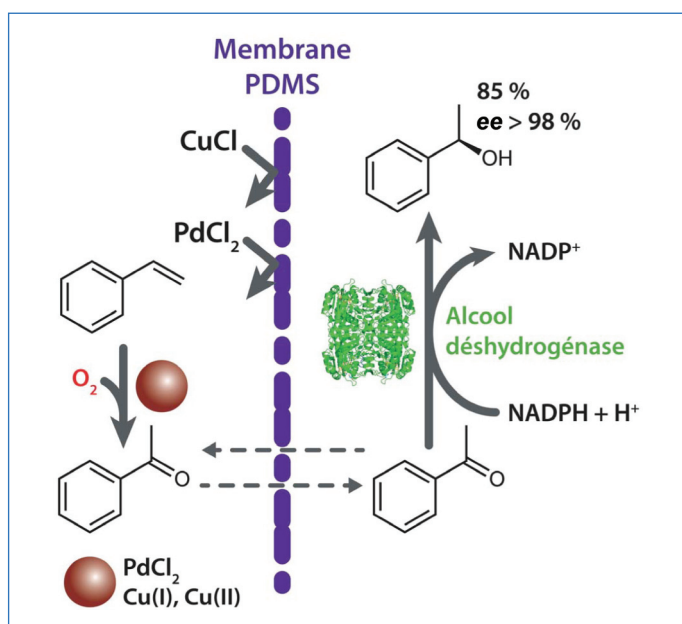


Figure 7 - Procédé membranaire hybride permettant la conversion du styrène en (*R*)-1-phényl-éthane-1-ol basé sur la combinaison d'un catalyseur Cu-Pd et d'une alcool déshydrogénase. Activité enzymatique et catalyse chimique sont isolées par la membrane en PDMS qui ne laisse passer que l'intermédiaire réactionnel acétophénone (figure adaptée de [14]).

L'utilisation de catalyseurs sensibles aux espèces présentes dans le milieu réactionnel. On peut citer l'oxydation du styrène qui débute via un catalyseur chimique de type CuCl/PdCl<sub>2</sub> pour former de l'acétophénone en présence d'oxygène, suivi d'une étape de réduction en 1-phényl-éthane-1-ol à l'aide d'une alcool déshydrogénase [14]. Bien que les deux réactions se déroulent en milieu aqueux, le verrou majeur concerne l'incompatibilité des deux catalyseurs en raison de la désactivation enzymatique par les ions cuivre. Pour lever ce verrou, le procédé est réalisé en isolant chaque réaction grâce à une membrane de polydiméthylsiloxane (PDMS). La porosité du PDMS permet la diffusion unique du substrat organique et du produit vers la partie extérieure où la catalyse enzymatique a lieu (figure 7). Grâce à cette approche, un taux de conversion de 85 % est obtenu vers la formation de l'énantiomère de configuration (*R*), avec un excès énantiomérique proche de 100 %. L'étude de recyclabilité a permis de montrer qu'il est possible de réaliser jusqu'à quinze cycles réactionnels sur une durée de 60 jours sans perdre d'activité catalytique, rendant

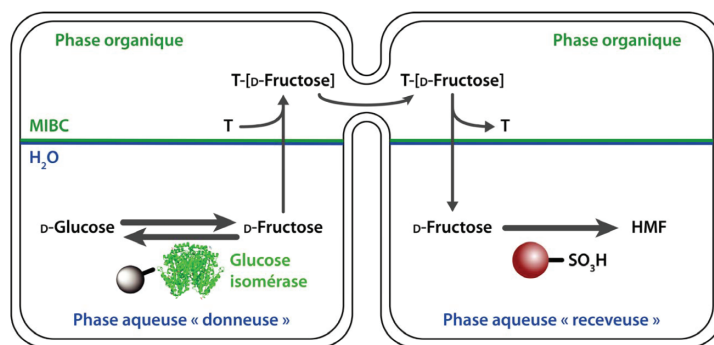


Figure 8 - Procédé hybride biphasique permettant la synthèse du 5-hydroxyméthylfurfural (HMF) à partir de glucose, par couplage d'une glucose isomérase supportée et d'une résine sulfonique. Le fructose est transporté de la phase aqueuse *donneur* vers la phase aqueuse *receveuse* à travers la phase organique à l'aide d'un transporteur T, ici un dérivé de l'acide boronique (figure adaptée de [15]).

possible la perspective d'une application au niveau industriel. Bien que présentant de nombreux avantages, mais grevée par des coûts élevés, une certaine fragilité et un manque de flexibilité en milieu industriel, l'utilisation de membranes solides n'est pas toujours idéale pour la réalisation de procédés hybrides.

Une étude récente montre ainsi l'intérêt de membranes liquides organiques (figure 8) pour la production de HMF à partir de glucose en phase aqueuse. L'utilisation d'une membrane liquide permet la réalisation d'un tandem entre l'étape d'isomérisation du glucose en fructose puis la déshydratation du fructose en HMF, toutes deux se produisant en phase aqueuse [15-16]. Les deux verrous suivants sont ainsi levés : l'équilibre thermodynamique de l'isomérisation enzymatique ne pouvant dépasser un rendement de 50 % en fructose ; et l'incompatibilité des pH de travail entre les deux types de catalyseurs. L'utilisation d'une membrane liquide organique de méthylisobutylcétone (MIBC) permet en effet l'extraction du fructose de la phase aqueuse « donneuse » où est réalisée l'étape d'isomérisation du D-glucose (pH = 8) grâce à une glucose isomérase. Pour y parvenir, cette membrane liquide (à température ambiante) contient des dérivés de l'acide boronique permettant la complexation de fructose néoformé à son interface avec la phase aqueuse « donneuse ». L'ester obtenu à l'aide de l'acide 3,4-dichlorophénylboronique (3,4-DCPBA) chargé négativement va former une paire d'ions avec de l'Aliquat336®, une amine quaternaire aussi présente dans la membrane liquide organique. Le fructose complexé est alors transporté à travers la membrane liquide jusqu'à la phase aqueuse dite « receveuse » contenant une résine sulfonique utilisée comme catalyseur de déshydratation. Les conditions acides (pH = 3) dans cette phase aqueuse permettent une hydrolyse du complexe à l'interface avec la membrane liquide organique libérant le D-fructose, qui est ensuite transformé en HMF sur la résine sulfonique. Afin d'améliorer le procédé, un design du réacteur en « H » est mis en œuvre, offrant une meilleure capacité d'homogénéisation des phases et une meilleure diffusion du fructose d'un environnement aqueux à l'autre.

La figure 9 représente le réacteur conçu pour permettre la réalisation de la catalyse hybride pour produire le HMF directement à partir du D-glucose. Après 32 heures de mise en œuvre à pH régulé (à 8,5 et 3,0, respectivement dans chaque compartiment) à 70 °C pour les deux compartiments, le rendement d'extraction atteint 97 %, tandis que le rendement

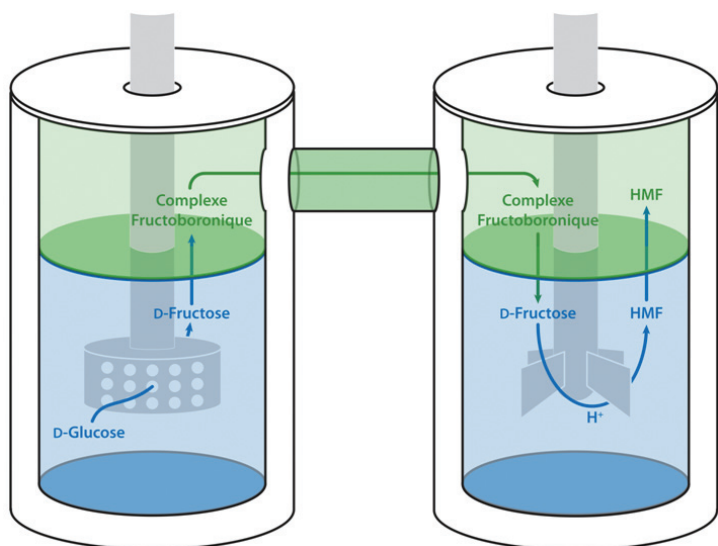


Figure 9 - Schéma du procédé total de production du HMF à partir du glucose mis en œuvre dans un réacteur en « H ». Dans la première phase aqueuse (bleue), dite « donneuse », le D-glucose est isomérisé en D-fructose à l'aide d'une glucose isomérase supportée. Le D-fructose est ensuite complexé avec un acide boronique afin de pénétrer dans la phase organique et être transporté jusque dans le second compartiment par diffusion. Dans ce dernier, le pH acide entraîne la décomplexation du D-fructose, qui est alors transféré dans la seconde phase aqueuse, dite « receveuse », au sein de laquelle il est finalement déshydraté en HMF en présence de résine sulfonique (figure adaptée de [17]).

d'isomérisation augmente jusqu'à 79 % et que le rendement en HMF atteint 31 % après 32 h à une conversion en glucose de 88 %. Le rendement d'extraction de 97 % montre un transport efficace au sein du réacteur. Le rendement d'isomérisation de 79 % démontre un déplacement de l'équilibre d'isomérisation de 29 points, grâce à l'extraction en continu du fructose de la phase aqueuse donneuse.

Le bilan matière de plus de 90 % pour espèces en phases aqueuses valide l'efficacité du relargage. Le rendement de déshydratation de 31 % après 32 h valide la production de HMF par catalyse hybride au sein du réacteur en « H ». C'est donc grâce à cette membrane liquide, ou plutôt ce « pont » organique entre les deux phases aqueuses présentant une différence de pH de cinq unités, qu'un tandem entre catalyse enzymatique et chimique est créé, rendant accessible la transformation « directe » du glucose en HMF.

### Combinaison des catalyseurs dans un même milieu réactionnel

Dans le cas où les deux catalyseurs présentent des conditions opératoires légèrement plus compatibles, et ne sont pas ou peu inhibés l'un par l'autre, il devient alors possible de les faire directement cohabiter au sein d'un même réacteur. Cette association directe présente l'avantage de simplifier grandement les procédés mis en œuvre, et d'ainsi réduire les coûts tant sur le plan financier qu'environnemental, avec notamment une économie importante en solvant. Afin de profiter au maximum de ces avantages, les deux catalyseurs doivent, si possible, être introduits en début de réaction et fonctionner de manière concomitante. Ce type de procédé, que nous avons qualifié précédemment de 1P1S (voir encadré 5), est idéal en catalyse hybride car l'économie d'atomes comme d'énergie y est maximale et les effets de synergie amplifiés. Cependant, s'il s'agit du type de procédé hybride le plus avantageux, il est extrêmement sophistiqué et demeure bien évidemment le plus complexe à mettre en œuvre. Ceci

explique pourquoi le nombre d'exemples en 1P1S est encore assez faible, avec seulement 36 procédés décrits à l'aube de 2020 (figure 10).

Malgré ces difficultés de mise en œuvre, il convient de rester très optimiste, les réalisations s'appuyant sur la catalyse hybride pour la synthèse de nouveaux composés selon ce type de stratégie se multipliant désormais à une vitesse impressionnante, avec une diversité de catalyseurs mis en jeu toujours plus grande. Les très récents travaux de Höhne *et coll.* en constituent très certainement l'un des meilleurs exemples [18]. Ces auteurs ont réalisé le couplage de pas moins de huit familles enzymatiques différentes avec un photocatalyseur organique de type quinonoïde (figure 11). Ce dernier est chargé d'introduire un groupement carbonyle sur divers substrats carbonés, qui deviennent alors substrats pour les différentes enzymes testées à travers un large panel de réactions. Au final, les auteurs ont pu obtenir par voie hybride 26 composés différents, dont sept par procédé 1P1S, avec des rendements et des excès énantiomériques élevés (de 25 % à 99 % suivant la classe d'enzyme utilisée), allant pour certains d'entre eux jusqu'à une production à l'échelle du gramme. Les réactions en 1P1S se sont révélées particulièrement adaptées aux enzymes qui ne nécessitent pas de cosubstrats redox, telles que les lyases ou les transférases. Pour les autres classes d'enzymes, il serait alors possible de mettre en œuvre une stratégie hybride de régénération des cosubstrats telle que présentée plus haut. Avec la transformation des liaisons C-H en six groupes fonctionnels différents (alcools, carbonyles, acides carboxyliques, esters, amines et nitriles), cette étude démontre parfaitement à quel point la réalisation de tandems catalytiques, et plus particulièrement de tandems hybrides, peut introduire de la diversité moléculaire dans les réactions

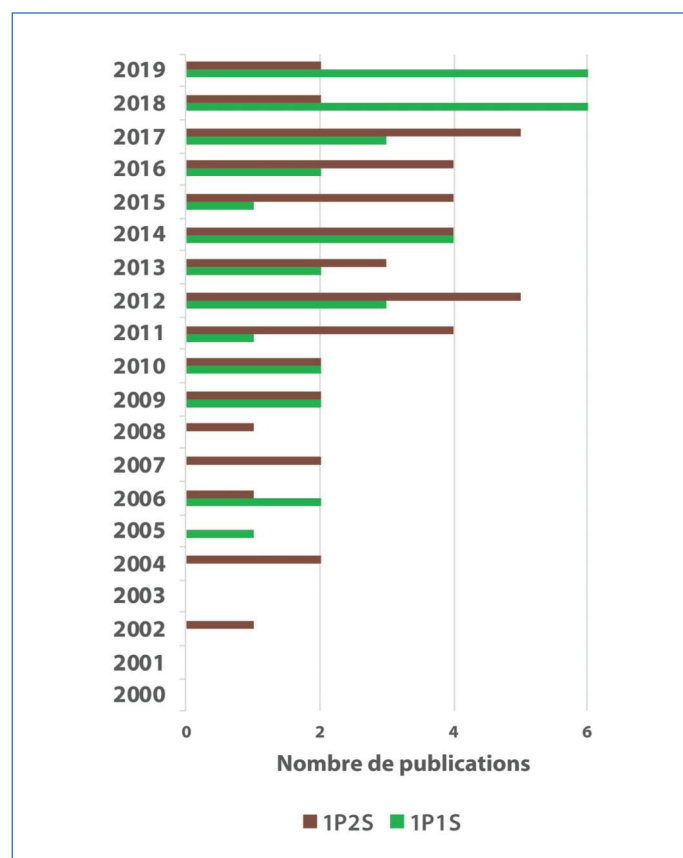


Figure 10 - Nombre de publications en catalyse hybride décrivant jusqu'en 2019 des exemples selon un procédé 1P1S (vert) ou 1P2S (brun) (figure adaptée de [6]).



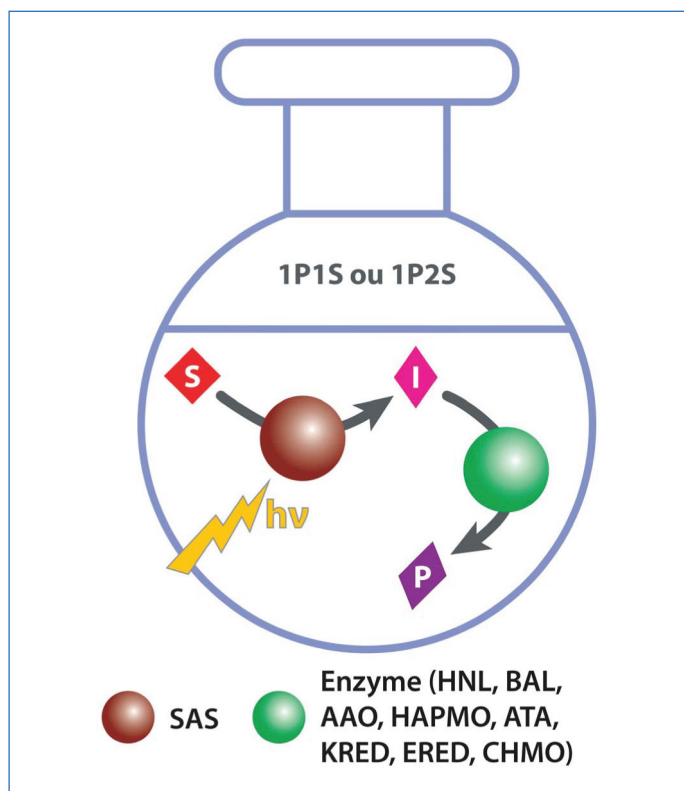


Figure 11 - Combinaison d'un photocatalyseur organique (anthraquinone sulfonate de sodium, SAS) avec plusieurs familles d'enzymes (HNL, hydroxynitrile lyase ; BAL, benzaldéhyde lyase ; AAO, aryl-alcool oxydase ; HAPMO, 4-hydroxyacétophénone monooxygénase ; ATA, amine transaminase ; KRED, cétone réductase ; ERED, ène-réductase ; CHMO, cyclohexanone monooxygénase) selon un procédé en « one-pot/one-step » (1P1S) ou « one-pot/two-steps » (1P2S), aboutissant à la synthèse d'un large panel de molécules (figure adaptée de [18]).

catalytiques. Ajoutons que, dans ce cas, cette stratégie a en plus permis de générer beaucoup de valeur ajoutée, les auteurs étant partis de substrats facilement accessibles et peu onéreux comme des dérivés du toluène et du cyclohexène pour aboutir à la formation de composés complexes, possédant un ou plusieurs centres asymétriques, et pouvant directement servir de building blocks pour des procédés de synthèse pharmaceutique, par exemple.

Ajoutons aussi que dans le cas où un procédé 1P1S n'était pas réalisable, les auteurs ont pu mettre en place des procédés alternatifs de type 1P2S afin de limiter l'empoisonnement de l'enzyme par le catalyseur chimique. Comme nous l'avons mentionné dans notre article précédent, cette alternative aux procédés en 1P1S consiste en l'ajout du deuxième catalyseur à un instant donné de la réaction, généralement une fois que l'intermédiaire réactionnel a atteint sa concentration maximale, afin de réaliser la seconde étape catalytique au sein du même réacteur mais de manière séquentielle. Ne nécessitant qu'une compatibilité moindre entre les deux catalyseurs, ce type de procédé est évidemment plus répandu dans la littérature avec 45 exemples en décembre 2019, mais il commence tout de même à être supplanté par les procédés en 1P1S. En effet, bien que très intéressants sur le plan de la diversité réactionnelle générée, les 1P2S présentent plusieurs désavantages importants, comme l'impossibilité de recycler les catalyseurs. Dans le cas où les deux systèmes catalytiques sont présents soit en phase homogène soit en phase hétérogène, il est difficile de les séparer de manière à pouvoir recommencer le cycle en effectuant un ajout extemporané de l'un des deux. Aussi, les procédés mixtes homogène-hétérogène

sont ici probablement les plus intéressants, l'un des deux catalyseurs (presque toujours le premier selon l'ordre réactionnel) étant bien souvent sacrifié au cours de l'opération. La possibilité de plus facilement recycler les catalyseurs justifie à elle seule le développement préférentiel de procédés 1P1S, mais il ne s'agit pas de leur unique avantage. Un second avantage réside dans leur capacité à produire, dans certains cas précis, des effets de synergie entre les catalyseurs mis en jeu [19]. Ceux-ci peuvent prendre la forme de levée d'inhibition comme nous l'avons déjà mentionné. Bien que n'augmentant pas l'activité catalytique maximale du catalyseur concerné, la suppression des inhibitions par un excès de substrat ou de produit permet en pratique d'améliorer les performances observées, et ce tout particulièrement dans le cas de concentrations élevées comme il est possible d'en trouver en conditions industrielles. C'est particulièrement le cas pour les enzymes qui souffrent souvent de ce type d'inhibition, et pour lesquelles le couplage en tandem avec un catalyseur chimique génère un véritable avantage [20].

Un autre type d'effet de synergie peut aussi être observé. Dans le cas où les sites catalytiques des différents catalyseurs sont proches les uns des autres, il est possible de limiter de manière importante la formation d'impuretés découlant de l'instabilité des intermédiaires réactionnels qui en temps normal s'accumulent lors des réactions multi-étapes, y compris dans le cas de procédés 1P2S. Cet effet est d'ailleurs d'autant plus important que la distance entre les différents sites catalytiques est faible, la diffusion des substrats de l'un à l'autre étant d'autant plus rapide. Nombre de chercheurs tentent de rapprocher au maximum les sites, allant jusqu'à les incorporer au sein d'un unique matériau, que l'on pourra alors qualifier de matériau multi-catalytique hybride (MMCH). Les avantages de tels matériaux sont nombreux, des effets de synergies jusqu'à la possibilité de les recycler par simple filtration. Ils font l'objet du quatrième et dernier article de ce dossier, dans lequel nous illustrerons leurs potentialités en synthèse.

- [1] K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry: A Textbook*, Springer-Verlag, **2004**.
- [2] C.A. Challener, *Chiral Drugs*, Routledge, **2017**.
- [3] E. Heuson, F. Dumeignil, The various levels of integration of chemo- and bio-catalysis towards hybrid catalysis, *Catal. Sci. Technol.*, **2020**, doi : 10.1039/d0cy00696c.
- [4] C. Moberg, Minor enantiomer recycling: a strategy to improve enantioselectivity, *Pure Appl. Chem.*, **2016**, *88*, p. 309-316.
- [5] R. Hertzberg, C. Moberg, One-step preparation of *O*-( $\alpha$ -bromoacyl) cyanohydrins by minor enantiomer recycling: synthesis of 4-amino-2(*5H*)-furanones, *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, p. 9174-9180.
- [6] E. Wingstrand, A. Laurell, L. Fransson, K. Hult, C. Moberg, Minor enantiomer recycling: metal catalyst, organocatalyst and biocatalyst working in concert, *Chem. Eur. J.*, **2009**, *15*, p. 12107-12113.
- [7] M.M. Musa, F. Hollmann, F.G. Mutti, Synthesis of enantiomerically pure alcohols and amines via biocatalytic deracemisation methods, *Catal. Sci. Technol.*, **2019**, *9*, p. 5487-5503.
- [8] N.J. Turner, Deracemisation methods, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2010**, *14*, p. 115-121.
- [9] O. Pàmies, J.-E. Bäckvall, Combination of enzymes and metal catalysts: a powerful approach in asymmetric catalysis, *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, p. 3247-3262.
- [10] A.S. de Miranda, L.S.M. Miranda, R.O.M.A. de Souza, Lipases: valuable catalysts for dynamic kinetic resolutions, *Biotechnol. Adv.*, **2015**, *33*, p. 372-393.
- [11] S.P. de Souza *et al.*, New biosilified Pd-lipase hybrid biocatalysts for dynamic resolution of amines, *Tetrahedron Lett.*, **2017**, *58*, p. 4849-4854.
- [12] H. Maid *et al.*, Iron catalysis for in situ regeneration of oxidized cofactors by activation and reduction of molecular oxygen: a synthetic metalloporphyrin as a biomimetic NAD(P)H oxidase, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, p. 2397-2400.
- [13] J.M. Foulkes, K.J. Malone, V.S. Coker, N.J. Turner, J.R. Lloyd, Engineering a biometallic whole cell catalyst for enantioselective deracemization reactions, *ACS Catalysis*, **2011**, *1*, p. 1589-1594.



- [14] H. Sato, W. Hummel, H. Gröger, Cooperative catalysis of noncompatible catalysts through compartmentalization: Wacker oxidation and enzymatic reduction in a one-pot process in aqueous media, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, *54*, p. 4488-4492.
- [15] A. Gimbernat, M. Guehl, N. Lopes Ferreira, E. Heuson, P. Dhulster *et al.*, From a sequential chemo-enzymatic approach to a continuous process for HMF production from glucose, *Catalysts*, **2018**, *8*, 335.
- [16] A. Gimbernat, M. Guehl, M. Capron, N. Lopes Ferreira, R. Froidevaux *et al.*, Hybrid catalysis: a suitable concept for the valorization of biosourced saccharides to value-added chemicals, *ChemCatChem*, **2017**, *9*, p. 2080-2084.
- [17] A. Gimbernat, J.-S. Girardon, N. Lopes Ferreira, D. Delcroix, R. Froidevaux, P. Dhulster, Procédé de production de 5-hydroxyméthylfurfural à partir d'hexoses, FR3068036A1, **2018**.
- [18] W. Zhang *et al.*, Combining photo-organo redox- and enzyme catalysis facilitates asymmetric C-H bond functionalization, *Eur. J. Org. Chem.*, **2019**, p. 80-84.
- [19] F. Dumeignil, M. Guehl, A. Gimbernat, M. Capron, N.L. Ferreira *et al.*, From sequential chemoenzymatic synthesis to integrated hybrid catalysis: taking the best of both worlds to open up the scope of possibilities for a sustainable future, *Catal. Sci. Technol.*, **2018**, *8*, p. 5708-5734.
- [20] Y. Wang, H. Ren, H. Zhao, Expanding the boundary of biocatalysis: design and optimization of in vitro tandem catalytic reactions for biochemical production, *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **2018**, *53*, p. 115-129.

**Egon HEUSON**<sup>1,\*</sup>, ingénieur de recherche, **Rénato FROIDEVAUX**<sup>1</sup>, professeur, **Jean-Sébastien GIRARDON**<sup>2</sup>, maître de conférences, **Ivaldo ITABAIANA Jr**<sup>2,3</sup>, professeur, **Robert WOJCIESZAK**<sup>2</sup>, chargé de recherche au CNRS, **Mickaël CAPRON**<sup>2</sup>, maître de conférences, **Sébastien PAUL**<sup>2</sup>, professeur, et **Franck DUMEIGNIL**<sup>2,\*</sup>, professeur à l'Université de Lille, directeur de l'Unité de Catalyse et Chimie du Solide (UCCS).

\*Auteurs correspondants :

egon.heuson@univ-lille.fr, franck.dumeignil@univ-lille.fr

<sup>1</sup> Univ. Lille, INRA, ISA, Univ. Artois, Univ. Littoral Côte d'Opale, EA 7394, Joint Research Unit BioEcoAgro - ICV - Institut Charles Viollette, F-59000 Lille, France.

<sup>2</sup> Univ. Lille, CNRS, Centrale Lille, Univ. Artois, UMR 8181 - UCCS - Unité de Catalyse et Chimie du Solide, F-59000 Lille, France.

<sup>3</sup> Departamento de Engenharia Bioquímica - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ 21941-909, Brésil.

## Nouvelle parution de la collection « Chimie et... »

### Chimie et nouvelles thérapies

M.-T. Dinh-Audouin, D. Olivier, P. Rigny (coord.)

254 p., 25 €

EDP Sciences, 2020



Acteurs ou bénéficiaires, nous sommes tous des spectateurs sidérés de l'ampleur des progrès de la médecine. Ils sont la conséquence des découvertes du XX<sup>e</sup> siècle, en particulier sur la biologie moléculaire et le génome. La recherche du XXI<sup>e</sup> siècle a ensuite pu bouleverser nos connaissances sur le fonctionnement du vivant au niveau moléculaire et sur l'extraordinaire ingéniosité des mécanismes moléculaires en jeu.

Des spécialistes présentent et expliquent ces connaissances qui ont permis tant de réalisations thérapeutiques et ouvert tant de perspectives.

Tout ce qui est « molécule » est « chimie », et les collaborations entre biologie, médecine et chimie sont si essentielles que sans elles, rien ne serait arrivé. Cela est vrai pour les nouvelles thérapies, ainsi que pour la recherche pharmaceutique. Les méthodes d'analyse chimique ouvertes par le numérique (le criblage des molécules) lui donnent une efficacité presque inimaginable.

La recherche fondamentale se traduit souvent par des innovations industrielles. L'apparition de l'inquiétant coronavirus (Covid-19) jette une lumière spectaculaire sur les besoins en nouvelles thérapies, avec l'objectif de vaccins et de traitements.

• En librairie ou en ligne sur [laboutique.edpsciences.fr](http://laboutique.edpsciences.fr)