

Quand certains « nanozymes » n'en sont pas : un exemple de dérapage sémantique

Résumé Depuis une quinzaine d'années, un nombre extrêmement important d'articles, largement cités, attribue aux nanoparticules ferromagnétiques de magnétite, dès lors dénommées « nanozymes », une activité catalytique efficace semblable à celle des peroxydases naturelles. Cependant, l'analyse des données expérimentales décrites doit être remise en question. Pour que la dénomination de « nano-*zyme* » soit acceptable, ces nanoparticules doivent correspondre à la définition usuelle d'un catalyseur et permettre une réaction similaire à celle de l'enzyme mimée, en ce qui concerne les produits et le mécanisme réactionnel. Ce n'est pas le cas dans de nombreuses publications mettant en jeu des nanozymes à base de magnétite, les auteurs s'étant, dans un « dérapage » sémantique, affranchis de la réalité de la catalyse.

Mots-clés Catalyse, nanoparticules, nanozyme, peroxydase.

Abstract When some “nanozymes” are not: an example of semantic slippage

Over the past fifteen years, ferromagnetic nanoparticles of magnetite have been named “nanozymes” in many articles, and considered as having an “intrinsic peroxidase-like activity” in the presence of hydrogen peroxide. However, the definition and the catalytic activity of these nanozymes have to be questioned. The main criteria that are essential to classify a nanoparticle as nanozyme are a real catalytic activity and an enzyme-like reaction. It is urgent to consider that all nanoparticles able to generate hydroxyl radicals in the presence of hydrogen peroxide without catalytic activity cannot be claimed as nanozymes.

Keywords Catalysis, nanoparticles, nanozyme, peroxidase.

Depuis une vingtaine d'années, le domaine des nanoparticules est en croissance extraordinairement rapide, tant par le nombre d'articles scientifiques publiés que par la diversité des propriétés et des usages revendiqués [1]. Certains articles décrivent une activité enzymatique pour des nanoparticules de magnétite, et les particules en question, dès lors dénommées « nanozymes », sont présentées comme semblables à des enzymes naturelles. Cependant, dans de nombreux cas, les résultats expérimentaux indiquent que ces nanoparticules n'ont pas d'activité catalytique réelle. Par ailleurs, lorsqu'elles réagissent, ni les produits de réaction ni les mécanismes réactionnels mis en jeu ne sont semblables à ceux observés avec des enzymes naturelles. Il s'agit donc d'une double falsification sémantique portant, d'une part sur la définition d'un catalyseur, et d'autre part, celle d'une enzyme.

Dans le domaine de la catalyse, de nombreux exemples concernent l'activité de nanoparticules d'or pour la réduction du 4-nitrophénol [2], ainsi que l'utilisation de nanoparticules de diamant revêtues d'or pour traiter des solutions aqueuses de phénol par oxydation de Fenton [3]. Ces travaux initiaux ont conduit à l'utilisation de nanoparticules comme catalyseurs de diverses réactions [4-7]. En 2004, le terme de « nanozyme » a été introduit par Manea *et al.* pour qualifier des particules d'or responsables d'une réaction de transphosphorylation [8]. Dans un article paru en 2007 et actuellement cité plus de 3 600 fois, Gao *et al.* affirment que des nanoparticules de magnétite (oxyde mixte de fer(II) et de fer(III) $\text{Fe}^{\text{II}}\text{O}\cdot\text{Fe}^{\text{III}}_2\text{O}_3$, ou Fe_3O_4) possèdent, en présence d'eau oxygénée H_2O_2 , une activité peroxydasique semblable à celle des peroxydases naturelles [9]. À côté de l'activité catalytique de ces nanoparticules, souvent à base de magnétite, de nombreuses applications biochimiques, biologiques, voire médicales, sont alors envisagées et le néologisme « nanozyme » devient

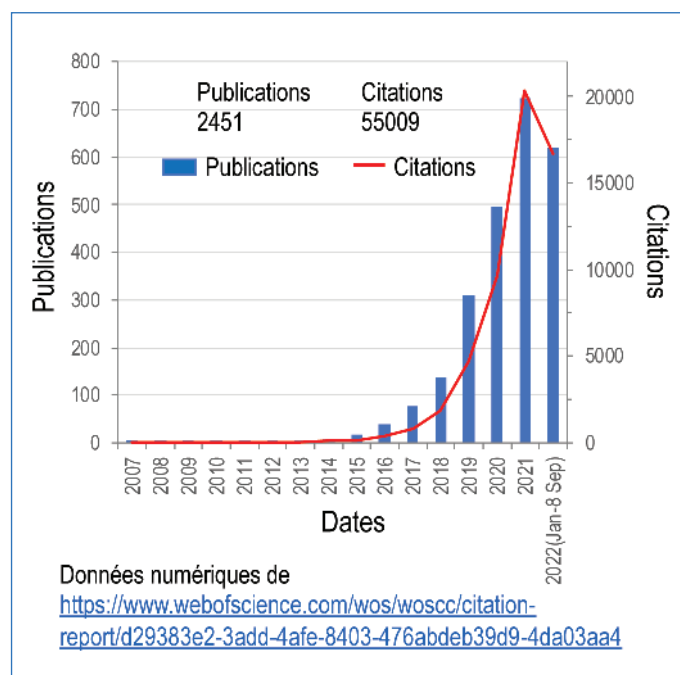


Figure 1 - Nombre d'articles et de citations par an entre 2007 et 2022, utilisant le mot-clé « nanozyme » dans la base de données Web of Science (Clarivate), à la date du 8 septembre 2022.

rapidement extrêmement populaire. À la date du 8 septembre 2022, ce mot-clé utilisé seul dans la base de données Web of Science génère plus de 2 451 publications citées plus de 55 000 fois, dont la quasi-totalité a été publiée dans les cinq dernières années (figure 1). Les nanozymes sont actuellement présentés par certains auteurs comme susceptibles de diagnostiquer et de traiter toutes les pandémies présentes et futures [10].

Magnétite et maladie d'Alzheimer

Au cours de nos recherches sur le rôle du cuivre dans la maladie d'Alzheimer [11], notre intérêt pour les nanozymes, et plus précisément les particules de magnétite, a été déclenché par une publication de 2016, selon laquelle la magnétite venant de la pollution atmosphérique pouvait se lier aux peptides amyloïdes et devenir un facteur déclenchant de la maladie d'Alzheimer [12]. Avant même que cet article ne soit disponible sur le site de *PNAS*, il a été très rapidement repris dans de nombreux médias, insistant sur le rôle de la pollution atmosphérique des grandes villes. Dès 2018, nous avons montré que la magnétite n'a pas d'activité d'oxydation catalytique et, en collaboration avec Azzedine Bousseksou et Gabor Molnar, qu'elle n'interagit pas de manière significative avec les peptides de type amyloïde [13]. Il faut noter que la présence de magnétite a été identifiée depuis longtemps dans de nombreuses espèces vivantes, y compris dans le cerveau humain, et qu'elle a été considérée comme d'origine endogène (« magnétite biogénique »). La concentration de magnétite dans le cerveau humain est deux fois plus élevée dans le cervelet que dans le cortex [14]. Par ailleurs les travaux récents de l'équipe de Lucia Bossoni ont montré que la concentration de magnétite dans le cerveau des personnes touchées par la maladie d'Alzheimer n'est pas plus élevée que celle d'une population contrôle. Par contre, la concentration post-mortem de ferrihydrite, un hydrate d'oxyde de fer(III) ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$), est plus élevée chez les sujets malades, ce qui confirme la dérégulation de l'homéostasie du fer dans cette maladie neurodégénérative [15]. Nous avons pu montrer que ces oxydations produites par la magnétite associée à H_2O_2 étaient dues à des radicaux hydroxyles générés par des traces d'ions métalliques, et non à une activité catalytique peroxydasique [16]. La présence de radicaux hydroxyles dans ces mêmes conditions avait été également identifiée par RPE (résonance paramagnétique électronique) [17].

Dans ce contexte, un peu confus, sur la nature exacte des espèces mises en jeu dans ces réactions avec la magnétite et l'eau oxygénée, nous avons été conduits à approfondir ce sujet en nous appuyant sur l'expérience de notre équipe dans le domaine des oxydations biomimétiques [18-20].

De manière factuelle, pour être qualifiée de nanozyme, la magnétite doit posséder deux caractéristiques essentielles des enzymes : avoir une activité catalytique efficace, et conduire à des produits identiques et selon un mécanisme similaire à celui des peroxydases naturelles.

La question de l'activité catalytique de ces « magnétite-nanozymes » est directement liée à la manière de considérer la quantité de catalyseur mise en jeu dans ces réactions. Pour décrire des activités catalytiques équivalentes à celles de la peroxydase de raifort (HRP ou « horseradish peroxydase », considérée comme la peroxydase de référence), de nombreux auteurs ne tiennent pas compte de la masse de magnétite mise en jeu dans la réaction, mais tendent à ne considérer que la masse de quelques sites catalytiques isolés au sein de ces nanoparticules, sans que la manière de comptabiliser ces sites isolés soit clairement définie. Dans ce contexte, nous nous sommes posés les deux questions suivantes : l'activité de la magnétite est-elle réellement catalytique ? Et l'oxydation d'un substrat par la magnétite est-elle une oxydation à deux électrons, semblable à celle d'une peroxydase ? Nous ne sommes d'ailleurs pas les seuls à nous préoccuper de

l'utilisation du terme « nanozyme » pour des nanoparticules dépourvues d'activité catalytique : en 2020, un éditorial du journal *ACS Catalysis*, sous un titre humoristique (« Nano-apples and orange-zymes »), rappelait que les nanozymes devaient réellement mimer les enzymes, c'est-à-dire effectuer les mêmes réactions, en mettant en jeu les mêmes substrats, et en générant les mêmes produits par des mécanismes semblables ou très proches [21].

L'oxydation de la TMB par $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ est-elle catalytique ?

Dans un premier temps, nous avons reproduit l'expérience décrite par Gao *et al.*, qui est l'oxydation de la 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) par Fe_3O_4 en présence d'eau oxygénée H_2O_2 , avec des résultats expérimentaux similaires à ceux décrits par Gao [13, 16]. Nous avons donc comparé ces résultats avec l'oxydation de TMB catalysée par HRP en présence de H_2O_2 . L'oxydation de la TMB est détectée par l'existence du complexe de transfert de charge [TMB•TMB_{oxydé}] caractérisé par une bande d'absorption UV-visible à 652 nm ($\epsilon_{652} = 3,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [22].

Les résultats décrits *figure 2* indiquent que HRP catalyse efficacement l'oxydation de TMB, réalisant près de 2 millions de cycles catalytiques en 5 minutes, soit 6 000 cycles par seconde (*figure 2a*). Cette activité catalytique élevée n'est pas un cas isolé en enzymologie. Par exemple, la catalase assure la dismutation de l'eau oxygénée à la vitesse de $3,6 \times 10^5$ cycles par seconde (soit 9×10^4 cycles par site hémérique).

Par contre, en présence de nanoparticules de magnétite comme catalyseur, l'absorbance du complexe [TMB•TMB_{oxydé}] n'est que de 0,34 à 5 minutes, soit environ le double de sa valeur en l'absence de Fe_3O_4 (0,16, *figure 2b*). Dans ces conditions, après 5 minutes de réaction, chaque mole de magnétite a oxydé $\frac{(0,34 - 0,16) / 39000}{1,7 \times 10^{-4}} = 0,03$ mole de TMB. Il ne s'agit

donc pas d'une réaction catalytique, mais d'une réaction sous-stœchiométrique.

Une autre façon d'évaluer l'efficacité de l'oxydation catalytique de la TMB est de calculer la masse de catalyseur nécessaire pour oxyder une masse donnée, disons par exemple un gramme, de substrat. À partir des résultats expérimentaux décrits dans la *figure 2*, on peut calculer que, pour oxyder 1 gramme de TMB en 5 minutes, 0,1 milligramme de HRP suffit ; par contre, il faut plus de 36 grammes de magnétite [23]. Il est naturellement difficile de considérer qu'un composé chimique est un catalyseur dès lors que sa masse mise en jeu dans la réaction est 36 fois la masse du substrat à transformer. Certains auteurs considèrent qu'il ne faut comptabiliser comme catalyseurs que les atomes de fer situés à la périphérie des nanoparticules, les autres étant enfouis et donc inaccessibles au substrat. Dans ces conditions, M. Zandieh *et al.* calculent que la magnétite effectue 2,7 cycles catalytiques dans les conditions expérimentales de Gao [24]. Pour calculer l'activité catalytique d'une enzyme, on considère évidemment sa masse molaire totale, incluant la protéine ($M = 40\,000$ uma pour HRP) au cœur de laquelle se trouve le site actif. Aucun enzymologiste ne considérerait le seul hème dans le calcul de l'activité d'une enzyme à hème. Néanmoins, en admettant l'hypothèse de Zandieh, cela revient à considérer que la majorité de la magnétite n'est qu'un ballast inerte, accomplissant moins de trois cycles.

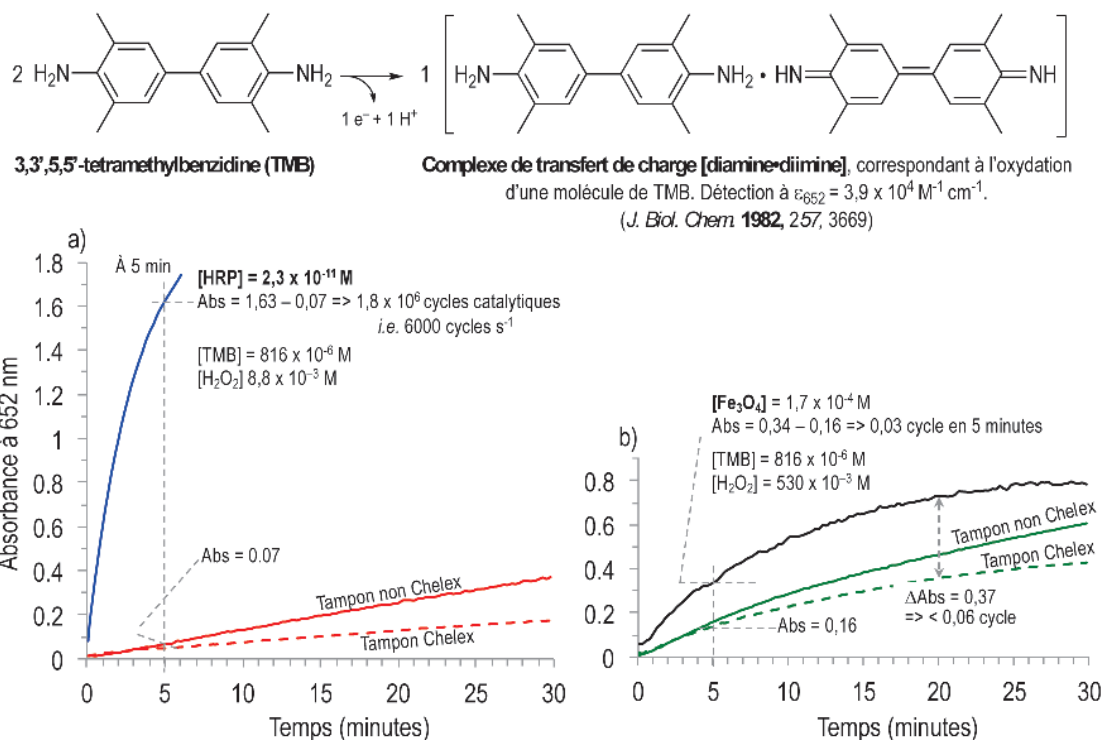


Figure 2 - Oxydation de la 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) par HRP/H₂O₂ (a, courbe bleue), ou par Fe₃O₄/H₂O₂ (b, courbe noire), à 37 °C, dans un tampon acétate traité par résine Chelex, pH 3,5. Les oxydations témoins, effectuées avec H₂O₂ seulement, sont représentées en rouge (a) ou en vert (b), dans un tampon acétate traité à la résine Chelex (pointillés) ou non traité (traits pleins). L'activité catalytique (nombre de moles de TMB oxydé/nombre de moles de HRP (a) ou Fe₃O₄ (b)) est calculée à 5 minutes.

Notons cependant que certaines nanoparticules ont une réelle activité catalytique. Par exemple, des nanoparticules contenant 1 % d'or en poids peuvent catalyser l'oxydation du phénol en solution aqueuse à la vitesse de 5 300 cycles par heure (88 cycles/minute) [3]. Des nanoparticules de (RuO₂)_{0,038}(SiO₂)_{0,962} réalisent la réduction du glucose en sorbitol avec une efficacité, certes modeste, mais réelle (vingt cycles en 5 heures, correspondant à 30 % de conversion du glucose) [25]. Dans ces deux cas, les nanoparticules catalytiques sont recyclables sans perte d'activité ou de sélectivité, ce qui est caractéristique d'un catalyseur. Il est donc raisonnable de continuer à appliquer aux nanozymes, et plus généralement à toutes les nanoparticules pour lesquelles une activité catalytique est revendiquée, les définitions classiques utilisées depuis longtemps dans le domaine de la catalyse.

L'oxydation de la TMB par Fe₃O₄/H₂O₂ est-elle semblable à l'oxydation catalysée par une peroxydase ?

Le mécanisme de l'oxydation de TMB par la magnétite associée à H₂O₂ est une autre question qui mérite investigation, même si cette oxydation est mineure, comme nous l'avons vu ci-dessus. Lors de la réaction spécifique des peroxydases à hème (figure 3a), la coupure hétérolytique de la liaison peroxydique est assistée par la structure électronique particulière de l'hème et les acides aminés de la protéine, et génère, comme espèce oxydante, un hème-fer(IV)-radical-cation qui est un oxydant à deux électrons. En l'absence des conditions structurales et électroniques particulières de ces sites actifs, particulièrement en présence d'un métal de transition réduit tel que Fe^{II} (ou Cu^I), la liaison O-O de l'eau oxygénée a une forte propension à la coupure homolytique. Cette activation

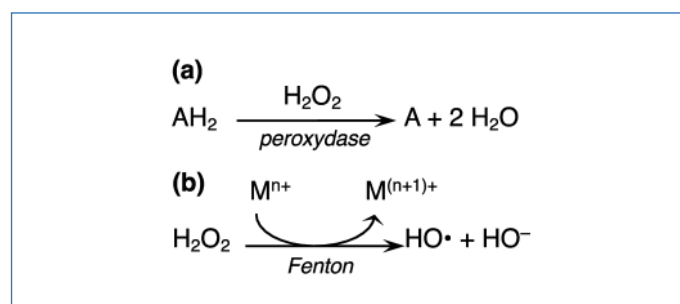


Figure 3 - (a) Oxydation à deux électrons d'un substrat AH₂ par une peroxydase ; (b) activation réductrice de H₂O₂, conduisant à la formation du radical hydroxyle HO•, oxydant à 1'électron (réaction de Fenton).

réductrice de H₂O₂, générant un radical hydroxyle HO•, est extrêmement rapide, efficace et catalytique en ion métallique, dès lors qu'il existe dans le milieu un réducteur permettant de régénérer le fer(II) (ou le cuivre(I)) ; c'est la réaction de Fenton (figure 3b). Le radical HO• est l'un des oxydants chimiques les plus puissants, réagissant avec à peu près tous les substrats par oxydation à un électron, ou addition sur une insaturation, à une vitesse contrôlée par la diffusion. Le mécanisme de cette réaction est donc différent de celui des peroxydases, les produits pouvant être différents ou non. Pour différencier une réaction de type peroxydase d'une réaction de Fenton, il ne suffit donc pas d'évaluer la consommation de substrat ou d'eau oxygénée. Il est nécessaire d'utiliser un substrat dont le produit d'oxydation par une peroxydase est spécifique et différent de celui produit par oxydation de Fenton. L'oxydation catalysée par HRP d'un composé de type 5-hydroxyindole, tel que l'acétate de 9-hydroxy-N²-méthyl-ellipticinium (9-OH-NME⁺) développé dans les années 1980 comme

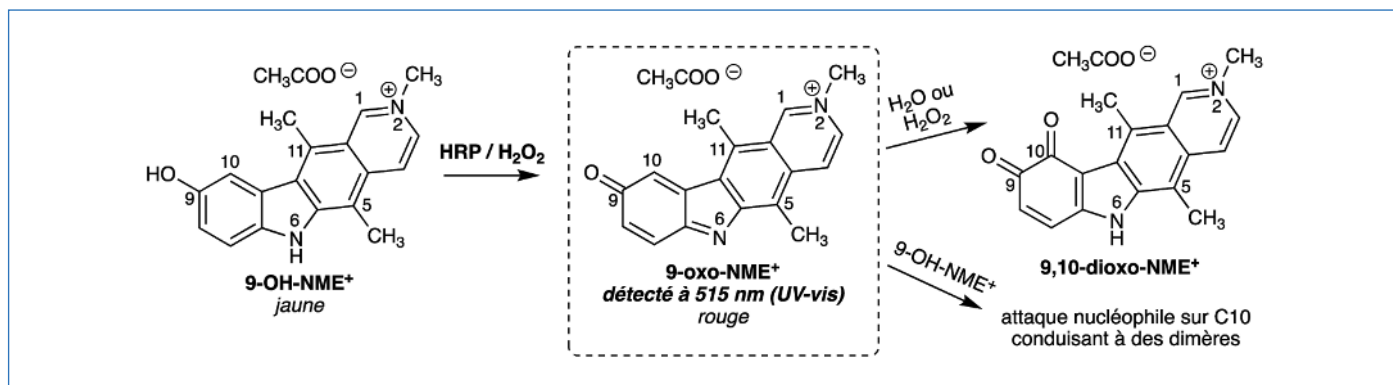


Figure 4 - Oxydation à deux électrons de l'acétate de 9-hydroxy-*N*²-méthyl-ellipticinium (9-OH-NME⁺) par HRP/H₂O₂, conduisant au dérivé *p*-quinone-imine (9-oxo-NME⁺).

anticancéreux, se traduit par la perte de deux électrons et deux protons, et produit une *para*-quinone-imine, l'acétate de 9-oxo-*N*²-méthyl-ellipticinium, mis en évidence par sa couleur rouge et son absorbance UV-vis (figure 4, ϵ_{515} (9-oxo-NME⁺) = $8,4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) [26-28], avec un rendement supérieur à 80 % après 30 secondes de réaction (ce produit est labile, figure 4 et figure 5, trace a). Par contre, le radical HO• est incapable d'oxyder ce *p*-aminophénol en *p*-quinone-imine. De même, en présence de magnétite associée à H₂O₂, la 9-oxo-NME⁺ n'est pas détectée, même lorsque la concentration de nanoparticules est quatre fois celle du substrat (figure 5, traces b-d), ce qui indique l'incapacité de la magnétite à catalyser cette oxydation à deux électrons, typique des peroxydases naturelles [29].

L'analyse de la figure 2 indique que les réactions témoins d'oxydation de TMB par H₂O₂ seule ne sont pas strictement identiques lorsque le tampon a été traité par résine Chelex ou non. Ce copolymère styrène-divinylbenzène greffé par des ions iminodiacétate est un chélateur polyvalent des ions métalliques. Le traitement d'une solution par Chelex vise donc à diminuer autant que possible les traces de métaux oxydo-réducteurs présents. Une oxydation plus faible de TMB après traitement du tampon par Chelex indique donc que cette oxydation est (au moins partiellement) médiée par des ions

métalliques présents en impuretés, selon la réaction de Fenton (figure 3b) ; elle indique aussi qu'il est impossible de s'affranchir totalement de cette réaction radicalaire. Afin d'en estimer le rôle en présence de magnétite, l'oxydation de TMB par H₂O₂ a été conduite dans un tampon acétate contenant 20 vol% de diméthylsulfoxyde, solvant connu pour être un piège (partiel) à radicaux HO•. Dans ces conditions, l'oxydation de TMB est réduite dans les mêmes proportions en présence ou en absence de Fe₃O₄ (60 % \pm 5 % après 30 minutes de réaction, figure 6) [29]. Cela confirme que HO• produit par la présence de traces métalliques suffit à oxyder la TMB, et que cette production de HO• est significativement réduite par 20 vol% de DMSO (figure 6b). L'oxydation de TMB étant dix fois plus élevée en présence de magnétite (figure 6a), cela indique aussi que le radical HO• est aussi généré par les nanoparticules de magnétite en présence de H₂O₂. Il faut noter que la magnétite commerciale que nous avons utilisée est pure à 97 % selon le fournisseur, sur la base de l'analyse métallique. Restent 3 % qui peuvent ne pas être innocents. Une oxydation marginale de TMB par Fe₃O₄/H₂O₂ peut donc parfaitement être réalisée par les impuretés métalliques oxydo-réductrices présentes dans la magnétite commerciale ou la magnétite « faite maison » (comme celle de Gao). De plus, cette oxydation de TMB n'a lieu qu'à pH 3,5-4, milieu acide favorable à la dissolution/désagrégation de la magnétite [30], qui peut se traduire par un relargage non contrôlé de fer.

De plus, les auteurs décrivant l'oxydation de la TMB argumentent le comportement « peroxydase-like » de la magnétite, en présentant une étude de cinétique enzymatique de type Michaelis-Menten [4, 9]. Il est toutefois nécessaire de rappeler qu'une telle approche cinétique n'est valable qu'à deux conditions : que la réaction soit réellement catalytique, et que le rapport des concentrations substrat/catalyseur soit suffisamment élevé pour que les sites catalytiques soient saturés. Ces deux conditions doivent être simultanément satisfaites pour une détermination valable des paramètres K_M et V_{max} [31]. Les conditions d'activité catalytique et d'état stationnaire n'étant pas réunies dans le cas de nanoparticules de magnétite, l'utilisation de la méthode de Michaelis-Menten est ici invalide et ne constitue en aucun cas une preuve de réaction enzymatique [23, 29].

La plupart des « nanozymes » présentés comme ayant une activité mimant une peroxydase sont donc en réalité des nanoparticules produisant des radicaux hydroxyles de façon non catalytique, et non une oxydation catalytique à deux électrons, typique d'une peroxydase naturelle. Dans ces conditions, présenter la magnétite comme un catalyseur doué

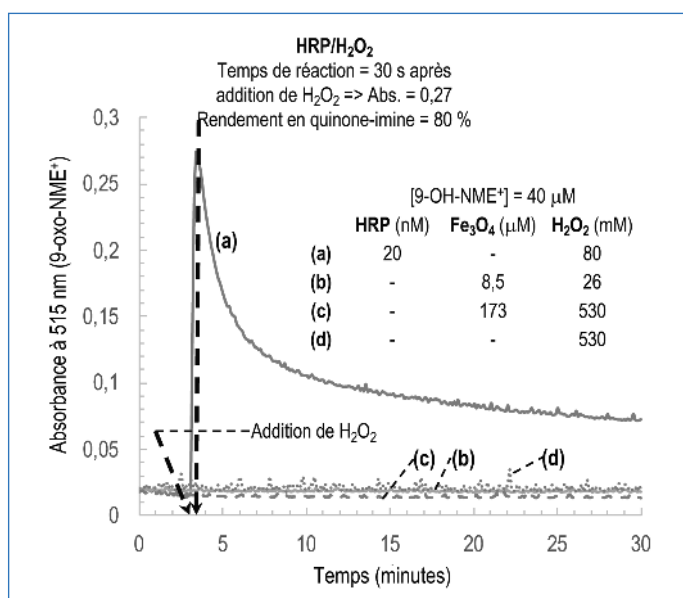


Figure 5 - Spectroscopie UV-visible de l'oxydation de l'acétate de 9-OH-NME⁺ en présence de HRP/H₂O₂ (a), ou Fe₃O₄/H₂O₂ (b, c), ou H₂O₂ seule (d). Le produit transitoire d'oxydation 9-oxo-NME⁺ est détecté à 515 nm.

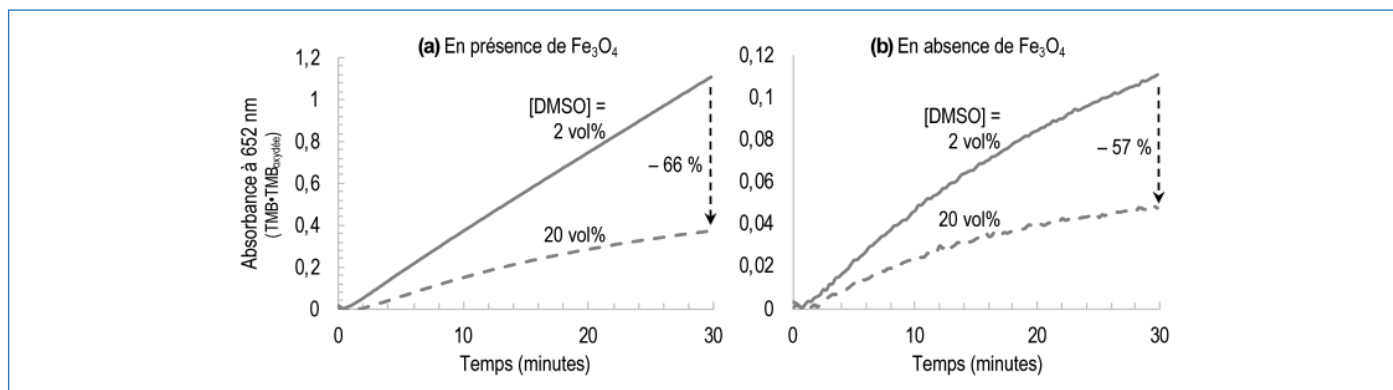


Figure 6 - (a) Oxydation de TMB par $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ en présence de 2 ou 20 vol% de DMSO dans un tampon acétate 200 mM, pH 3,5, 37 °C ([TMB] = 816 μM , [Fe_3O_4] = 0,04 mg/mL = 173 μM , [H_2O_2] = 98 mM). (b) Réaction contrôlée en l'absence de Fe_3O_4 , toutes autres choses égales. Le produit d'oxydation de TMB (complexe de transfert de charge TMB-TMB_{oxydé}) est détecté à 652 nm.

d'une activité de type enzymatique relève d'une double falsification sémantique concernant, d'une part la définition d'un catalyseur, et d'autre part, celle d'une peroxydase. Le respect d'un vocabulaire scientifique précis et validé par les pairs est essentiel pour continuer à enseigner la catalyse et l'enzymologie aux futures générations d'étudiants.

Nous ne considérons pas, bien sûr, que tous les articles faisant état d'activités biologiques de « nanozymes » sont entachés des mêmes erreurs méthodologiques. Cependant, il est indispensable de considérer avec prudence la cohérence entre résultats expérimentaux et revendications. En conclusion : n'est pas nanozyme qui veut !

De même que des modèles efficaces d'enzymes à hème ont été développés [32], des nanoparticules capables de réellement mimer des peroxydases seront certainement mises au point dans l'avenir. Actuellement, cette page de la chimie reste à écrire.

[1] Several authors, Special issue devoted to nanoparticles in catalysis, *Chem. Rev.*, **2020**, *120*, p. 461-1512.

[2] C.L. Heinecke, N.W. Milosch, R.E. Dufour, M.G. Rodriguez, Analysis of the reduction of 4-nitrophenol catalyzed by para-mercaptobenzoic acid capped magic number gold clusters, *Catal. Lett.*, **2022**, p. 1257-63, <https://doi.org/10.1007/s10562-021-03727-0>

[3] S. Navalon, R. Martin, M. Alvaro, H. Garcia, Sunlight-assisted Fenton reaction catalyzed by gold supported on diamond nanoparticles as pretreatment for biological degradation of aqueous phenol solutions, *ChemSusChem*, **2011**, *4*, p. 650-657.

Dans une solution contenant 1 g/L de phénol et 0,08 g/L de nanoparticules Au/DNP (Au = 1 wt), la conversion du phénol est totale en 5 h. La proportion de nanoparticules par rapport au phénol est de (0,08/1) x 100 = 8 wt%, et la proportion d'or est de 0,08 wt% par rapport au substrat, que l'or soit en surface ou bien enfoui dans les nanoparticules. Dans ces conditions, les concentrations sont [phénol] = 10,6 mM et [Au] = 0,0004 mM ; l'activité catalytique (« turnover number ») est de 26 500 cycles en 5 h, correspondant à une vitesse (« turnover frequency ») de 1,47 s⁻¹ (5 300 h⁻¹).

[4] B. Jiang *et al.*, Standardized assays for determining the catalytic activity and kinetics of peroxidase-like nanozymes, *Nat. Protoc.*, **2018**, *13*, p. 1506-20.

[5] M. Liang, X. Yan, Nanozymes: from new concepts, mechanisms, and standards to applications, *Acc. Chem. Res.*, **2019**, *52*, p. 2190-200.

[6] W. Yang *et al.*, Nanozymes: activity origin, catalytic mechanism, and biological application, *Coord. Chem. Rev.*, **2021**, *448*, art. 214170.

[7] X. Huang *et al.*, Advances in metal-organic framework-based nanozymes and their applications, *Coord. Chem. Rev.*, **2021**, *449*, art. 214216.

[8] F. Manea, F. Bodar Houillon, L. Pasquato, P. Scrimin, Nanozymes: gold-particle-based transphosphorylation catalysts, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, *43*, p. 6165-69.

[9] L. Gao *et al.*, Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles, *Nat. Nanotechnol.*, **2007**, *2*, p. 577-583.

[10] M. Kumawat, A. Umapathi, E. Lichtfouse, H. Kumar Daima, Nanozymes to fight the Covid-19 and future pandemics, *Environ. Chem. Lett.*, **2021**, *19*, p. 3951-57.

[11] A. Robert, Y. Liu, M. Nguyen, B. Meunier, Regulation of copper and iron homeostasis by metal chelators: a possible chemotherapy for Alzheimer's disease, *Acc. Chem. Res.*, **2015**, *48*, p. 1332-39.

[12] B. Maher *et al.*, Magnetite pollution nanoparticles in the human brain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2016**, *113*, p. 10797-801.

[13] M. Gumpelmayer, M. Nguyen, G. Molnar, A. Bousseksou, B. Meunier, A. Robert, Magnetite Fe_3O_4 has no intrinsic peroxidase activity and is probably not involved in Alzheimer's oxidative stress, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, *130*, p. 14974-979.

[14] S.A. Gilder *et al.*, Distribution of magnetic remanence carriers in the human brain, *Sci. Rep.*, **2018**, *8*, art. 11363.

[15] L. Van der Weerd, A. Lefering, A. Webb, R. Egli, L. Bossoni, Effects of Alzheimer's disease and formalin fixation on the different mineralized-iron forms in the human brain, *Sci. Rep.*, **2020**, *10*, 16440.

[16] B. Meunier, A. Robert, Comment on "Free-radical formation by the peroxidase-like catalytic activity of MFe_2O_4 (M = Fe, Ni and Mn) nanoparticles", *J. Phys. Chem. C*, **2019**, *123*, p. 28513-514.

[17] A.C. Moreno Maldonado *et al.*, Free-radical formation by the peroxidase-like catalytic activity of MFe_2O_4 (M = Fe, Ni, and Mn) nanoparticles, *J. Phys. Chem. C*, **2019**, *123*, p. 20617-627.

[18] B. Meunier, B. de Visser, S. Shaik, Mechanism of oxidation reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes, *Chem. Rev.*, **2004**, *104*, p. 3947-80.

[19] *Peroxidases in Chemistry and Biology*, J. Everse, K.E. Everse, M.B. Grisham (eds), CRC Press, Boca Raton, **1990**, vol. I & II.

[20] B. Meunier, Models of heme peroxidases and catalases, In *Biomimetic Oxidations Catalyzed by Transition Metal Complexes*, B. Meunier (ed.), Imperial College Press, Londres, **2000**, Chap. 4, p. 171-214.

[21] S. Scott, H. Zhao, A. Dey, T.B. Gunnoe, Nano-apples and orange-zymes, *ACS Catal.*, **2020**, *10*, p. 14315-317.

[22] P.D. Joseph, T. Eling, R.P. Mason, The horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of 3,5,3',5'-tetramethylbenzidine. Free radical and charge-transfer complex intermediates, *J. Biol. Chem.*, **1982**, *257*, p. 3669-75.

[23] A. Robert, B. Meunier, How to define a nanozyme, *ACS Nano*, **2022**, *16*, p. 6956-59.

[24] M. Zandieh, J. Liu, Nanozyme catalytic turnover and self-limited reactions, *ACS Nano*, **2021**, *15*, p. 15645-655.

[25] S. Esposito *et al.*, Self-activating catalyst for glucose hydrogenation in the aqueous phase under mild conditions, *ACS Catal.*, **2019**, *9*, p. 3426-36.

Des nanoparticules de formule $(\text{RuO}_2)_{0,038}(\text{SiO}_2)_{0,962}$ (500 mg) sont utilisées pour réduire 200 mL d'une solution 0,1 M de glucose en sorbitol. Avec environ 30 % de conversion du glucose en 5 h (figure 3), 1,1 g de substrat est converti par 0,5 g de nanoparticules. La quantité de glucose réduite est de 6 mmoles, pour une quantité de ruthénium de 0,3 mmole [6,11 wt% de Ru dans $(\text{RuO}_2)_{0,038}(\text{SiO}_2)_{0,962}$], ce qui correspond à un turnover (TON) = 0,3/6 = 20 cycles en 5 h, et une vitesse (TOF) de 4 h⁻¹ (11×10^{-4} s⁻¹). Le catalyseur peut être recyclé sans perte d'activité ou de sélectivité (figure 3).

[26] C. Auclair, C. Paoletti, Bioactivation of the antitumor drugs 9-hydroxyellipticine and derivatives by a peroxidase-hydrogen peroxide system, *J. Med. Chem.*, **1981**, *24*, p. 289-295.

[27] J. Bernadou, G. Meunier, C. Paoletti, B. Meunier, o-Quinone formation in the biochemical oxidation of the antitumor drug N²-methyl-9-hydroxyellipticinium acetate, *J. Med. Chem.*, **1983**, *26*, p. 574-579.

[28] G. Meunier, B. Meunier, Peroxidase-catalyzed O-demethylation reactions. Quinone-imine formation from 9-methoxyellipticine derivatives, *J. Biol. Chem.*, **1985**, *260*, p. 10576-582.

[29] M. Nguyen, A. Robert, B. Meunier, "Nanozymes" without catalytic activity should be renamed, **2021**, hal-03290323.

[30] R. Salmimies, M. Mannila, J. Kallas, A. Häkkinen, Acidic dissolution of magnetite: experimental study on the effects of acid concentration and temperature, *Clays Clay Miner.*, **2011**, *59*, p. 136-146.

[31] S. Schnell, Validity of the Michaelis-Menten equation. Steady-state or reactant stationary assumption: that is the question, *FEBS J.*, **2014**, *281*, p. 464-472.

[32] B. Meunier, Metalloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage, *Chem. Rev.*, **1992**, *92*, p. 1411-56.

Anne ROBERT¹, directrice de recherche au CNRS, et **Bernard MEUNIER**^{1,2}, directeur de recherche émérite au CNRS, membre de l'Académie des sciences.

¹Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS, Inserm ERL 1289, Toulouse.

²School of Chemical Engineering and Light Industry, Guangdong University of Technology, Guangzhou (Chine).

* anne.robert@lcc-toulouse.fr ; bmeunier@lcc-toulouse.fr