

Le remplacement des métaux précieux par la catalyse enzymatique

Résumé La biocatalyse, utilisant des enzymes définies pour des transformations chimiques, est devenue une solution technologique de plus en plus populaire en synthèse chimique sur le plan académique mais aussi à l'échelle industrielle. En plus des avantages d'employer des enzymes dans des conditions de réaction douces et respectueuses de l'environnement, les chimistes reconnaissent la valeur des enzymes liée à la sélectivité exceptionnelle, en termes de stéréo-, régio- et chimiosélectivité dans de nombreuses biotransformations. Après deux décennies d'impressionnants développements, le domaine est maintenant mature pour proposer un panel d'enzymes très diversifié. Des réactions catalysées par des métaux peuvent ainsi être remplacées par des réactions biocatalysées (réduction asymétrique d'alcènes, d'alcynes conjugués, de cétones, d'étones), conduire l'amination asymétrique de cétones, mais aussi dans le cas des réactions d'oxydation, réaliser la désaturation de cétones.

Mots-clés Biocatalyse, enzyme, biotransformation, catalyse enzymatique, chimiosélectivité, stéréosélectivité, régiosélectivité, réduction, amination, oxydation.

La biocatalyse : une solution technologique indispensable dans la boîte à outils du chimiste de synthèse

La catalyse est au cœur de la chimie de synthèse moderne : 90 % de tous les produits chimiques commerciaux sont produits par des méthodes qui impliquent au moins une étape catalytique. En conséquence, le marché mondial des catalyseurs a connu une croissance constante au cours des dernières décennies. Bien que l'histoire du développement et des applications des catalyseurs artificiels remonte au XVIII^e siècle, la recherche sur la catalyse reste l'un des domaines les plus dynamiques de la recherche en synthèse chimique.

Il convient de noter que la pression croissante pour réduire la consommation d'énergie, protéger l'environnement et conserver les ressources naturelles défie plus que jamais les chimistes de synthèse. Ces derniers continuent leur quête à la recherche du processus de synthèse « idéal ». Le processus de synthèse ultime se définit par un rendement et une énantiosélectivité de 100 %, un procédé économique, respectueux de l'environnement et durable pour la production de composés utiles. La catalyse est clairement un moyen pour y parvenir.

Parmi les domaines de la catalyse, nous pouvons retenir la catalyse homogène, hétérogène, l'organocatalyse et la biocatalyse. Dans cet article, nous nous intéresserons à cette dernière, pour laquelle des progrès considérables ont été obtenus depuis ces deux dernières décennies, conduisant à une technologie mature en synthèse organique.

Une des avancées majeures aura été la mise au point des méthodes d'évolution dirigée d'enzymes par Frances Arnold qui ont permis l'adaptation des enzymes et leur optimisation aux besoins de la catalyse – ses travaux ont été récompensés par le prix Nobel de chimie en 2018⁽¹⁾. Une autre avancée majeure pour la découverte de nouvelles enzymes a été l'explosion fulgurante des progrès de séquençage d'ADN à haut débit, mais également le développement des techniques d'ingénierie de protéines combinées avec les nouveaux outils de modélisation en bioinformatique. L'ensemble de tous ces progrès technologiques ont permis de déployer l'application de la biocatalyse dans de multiples voies de synthèse [1-2]. Aujourd'hui, le nombre de réactions accessibles par une approche biocatalytique s'est considérablement élargi [3].

Classification périodique des éléments

1	2																		18
H	He																		
Li	Be																		
Na	Mg	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12								
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Cobalt	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr		
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe			
Cs	Ba		Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn			
Fr	Ra		Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn	Nh	Fl	Mc	Lv	Ts	Og		

Toutefois, pour les néophytes, son utilisation semble réservée à certains experts, alors qu'elle devrait être plus largement répandue chez le chimiste de synthèse.

Changeons de paradigme ! En effet, les principaux préjugés sont essentiellement qu'un procédé enzymatique est nécessairement très dilué, que les enzymes ne sont pas stables, qu'elles constituent un coût élevé dans le procédé, et que la réaction ne fonctionne pas sur des composés non solubles dans l'eau ou très éloignés du substrat naturel.

Notons également que les réactions biocatalysées peuvent être conduites en combinaison avec les solvants organiques, et que la stabilité et la productivité des biocatalyseurs pour des applications commerciales sont désormais largement démontrées [4].

Les enzymes ont une structure 3D chirale qui interagit en de multiples points de contact avec le substrat, expliquant ainsi activité et sélectivité. Ainsi, au travers de l'ingénierie des protéines, les modifications des séquences protéïques et par conséquent de leurs structures 3D, il est possible de modifier à l'infini les propriétés d'un biocatalyseur afin d'atteindre le cahier des charges ciblé. À l'inverse, la sélectivité et la réactivité des catalyseurs chimiques sont plus limitées aux structures disponibles des catalyseurs eux-mêmes ou bien de leurs ligands.

Il est important de mentionner que l'organocatalyse a longtemps été éclipsée par les nombreux succès de la catalyse utilisant les métaux de transition. Cependant, à partir de la fin

des années 1990, une série d'études fondamentales sur les catalyseurs chiraux sans métal, tels que les cétones, les thiourées et les amines, pour la catalyse asymétrique, a déclenché un nouvel engouement pour l'organocatalyse [5].

Cette renaissance a significativement modifié le champ du possible en catalyse. C'est une alternative prometteuse, présentant généralement une meilleure tolérance à l'humidité et à l'air, ainsi qu'une excellente compatibilité avec divers groupes fonctionnels. Toutefois, leur principale limite est leur faible efficacité. Dans de nombreux cas, il est nécessaire d'avoir une quantité de catalyseur élevée et la sélectivité est difficile à contrôler. La nécessité de développer des catalyseurs hautement chimiosélectifs et efficaces reste un défi en chimie de synthèse, aussi bien en organocatalyse qu'en catalyse organométallique.

Pourquoi vouloir substituer les métaux de transition par la catalyse enzymatique ?

Les métaux de transition sont très largement utilisés en tant que catalyseurs dans la synthèse de molécules pour la chimie fine ou pour l'industrie pharmaceutique. Les principales réactions catalysées par des métaux de transition sont les couplages croisés pour la création de liaisons carbone-carbone (couplages de Suzuki, Negishi, Heck...) et les réactions de réduction (hydrogénation/réduction asymétrique d'imines, d'alcènes, de cétones...). Bien que très efficaces en termes de sélectivité (chimio-, régio-, énantio-), ces réductions sont affectées par le prix des métaux de transition qui peuvent conduire à un problème de compétitivité économique. En effet, au cours des cinq dernières années, le prix des métaux de transition a fortement augmenté : par exemple d'un facteur 5 pour le palladium, ou encore d'un facteur 11 pour le rhodium (figure 1). De plus, la plupart des catalyseurs à base de métaux de transition sont associés à un ligand. Ces ligands, qui sont nécessaires à l'activité catalytique ou à l'induction de la chiralité, sont généralement sensibles à l'air et requièrent plusieurs étapes de synthèse, ce qui impacte considérablement le prix du catalyseur.

Les variations des prix de ces métaux de transition sont très sensibles aux événements géopolitiques du fait de leur provenance internationale. La catalyse à base de métaux précieux pour industrialiser des procédés compétitifs est donc assez vulnérable. En comparaison, le coût de production de l'enzyme est stable et prédictif, ce qui permet d'amener le procédé enzymatique à un modèle économique plutôt constant.

De plus, l'utilisation de la catalyse homogène dans l'industrie pharmaceutique doit s'accompagner d'une élimination complète de toutes traces de métal, généralement toxique, dans le principe actif fini. Par conséquent, l'étape de purification pour éliminer les métaux aux seuils requis peut être problématique.

Lorsque l'on compare la biocatalyse par rapport à la catalyse hétérogène, même si certaines conditions opératoires sont similaires telles que le pH, la température et la pression, en général la catalyse hétérogène ou homogène est réalisée avec des productivités (STY) comprises entre 1 et 10 kg/L/h. En comparaison, la biocatalyse atteint plus fréquemment des STY dans la plage de 0,001-0,3 kg/L/h. Toutefois, la possibilité aujourd'hui d'identifier et de concevoir l'enzyme optimisée (ou enzyme sur mesure) pour la synthèse de produits chimiques est plus que jamais à portée de main ! L'exemple



Figure 1 - Évolution du prix du palladium et du rhodium.

industriel le plus impressionnant est la production d'acrylamide avec une nitrile hydratase (STY > 100 g/L*h) à l'échelle de 50 000 t/an [6].

Rappelons que l'amélioration des enzymes par l'approche d'évolution dirigée a d'abord été mise au point par Arnold, Stemmer et Reetz autour du tournant du XXI^e siècle [7]. Elle s'est révélée cruciale pour améliorer les propriétés enzymatiques existantes, ce qui a permis aux chercheurs de développer des enzymes avec de nouvelles performances. Bien que généralement très spécifique pour son substrat naturel, une enzyme peut présenter une sélectivité moindre sur un substrat non naturel, ainsi qu'une activité et une stabilité limitées dans les conditions opératoires. Ces différents paramètres peuvent être maintenant améliorés avec une efficacité et une rapidité accrues du fait des nouvelles méthodes d'évolution rationnelles ou semi-rationnelles reposant sur des approches bioinformatiques [8].

Nous avons établi ici une liste exhaustive des réactions catalysées par des métaux qui peuvent être remplacées par des réactions biocatalysées, soit en illustrant avec des exemples au sein de Seqens, soit en décrivant des exemples publiés.

Réductions enzymatiques

La réduction des alcènes

La réduction des alcènes en leurs produits saturés est une transformation chimique très importante et recherchée dans la synthèse de composés dans divers domaines, allant du « craquage » jusqu'à la production de synthons complexes utilisés le plus souvent dans l'industrie des arômes et parfums, cosmétique, agrochimique ou pharmaceutique.

L'une de ces approches consiste à réaliser une hydrogénation asymétrique, ce qui implique l'utilisation de métaux précieux comme le rhodium, le ruthénium ou l'iridium en association avec, le plus souvent, des phosphines chirales, et où la source réductrice est l'hydrogène gazeux. Sa mise en application nécessite une expertise particulière en catalyse, et bien sûr

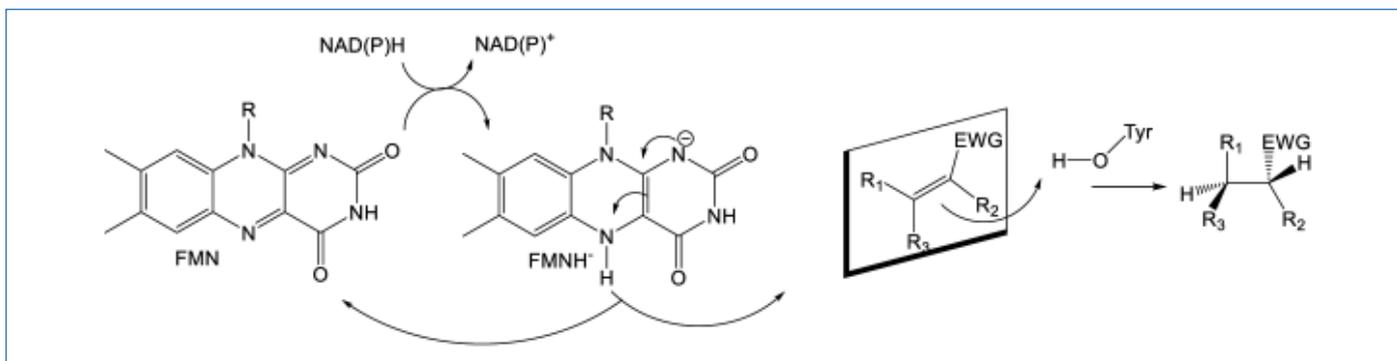


Figure 2 - Schéma général de la réduction stéréosélective d'alcènes activés par les enzymes ERED dépendant du FMN (EWG : groupe électro-attracteur ; FMN : flavine mononucléotide).

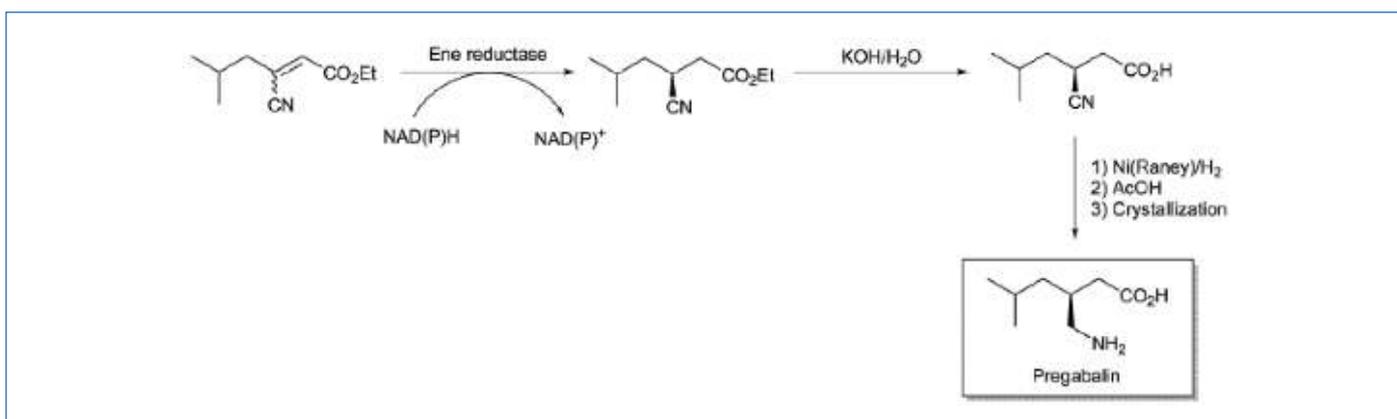


Figure 3 - Synthèse enzymatique d'un intermédiaire de la prégabaline avec une ERED.

l'accès à l'équipement approprié d'hydrogénation sous pression.

Concernant l'accès au ligand chiral, celui-ci est parfois disponible commercialement, sinon il est nécessaire de le synthétiser. Ainsi, le coût et le délai de production de certains ligands chiraux, tels que les phosphines chirales, sont à prendre en considération.

En comparaison, les enzymes (une chaîne polypeptidique qui comprend en moyenne 200-600 acides aminés) sont nécessairement produites par fermentation. Selon l'hôte de production (bactérie ou levure, par ex.), les durées de culture sont de l'ordre de 24 à 72 heures.

Ce type de réduction asymétrique peut être catalysée par une classe d'enzymes, les ène-réductases (ERED), aussi appelées « old yellow enzyme » (OYE). La réaction globale catalysée par les ène-réductases est dépendante du cofacteur FMN (flavine mononucléotide) qui sert de « navette » pour transférer des électrons. La réaction se déroule en deux étapes : la première consiste en une oxydation du NAD(P)H par transfert d'hydruure vers le cofacteur FMN flavine (demi-réaction réductrice), et la deuxième étape consiste en un transfert d'hydruure de la flavine réduite au substrat qui effectue la réduction des alcènes (demi-réaction d'oxydation) (figure 2). Signalons que les alcènes substrats de ces enzymes doivent comporter un groupement électro-attracteur (exemples : nitro, carbonyle, nitrile, imide et dérivés carboxyliques) pour activer la double liaison.

Exemples de réactions ène-réductases décrites dans la littérature

Les ène-réductases font l'objet d'une attention particulière de la part de groupes de chimie qui développent des procédés pharmaceutiques industriels ; on peut citer par exemple les

travaux publiés par Pfizer Inc. concernant la synthèse de la prégabaline [9]. La biotransformation, à partir de l'isomère (E) du dérivé nitrile, a été obtenue avec un rendement de 69 % et > 99 % ee (figure 3).

Dans le cas de la synthèse de vinylphosphonates [10], la réduction asymétrique par des catalyseurs au rhodium est peu énantiosélective et les taux de conversion sont très moyens [11], alors que ce type de catalyse s'avère extrêmement efficace sur des analogues fonctionnalisés avec un groupement énamide ou des esters d'énols.

La version biocatalysée a été étudiée par le groupe de Faber et a permis d'obtenir d'excellents résultats en termes de stéréosélectivité, en particulier sur des dérivés vinylphosphonates β -activés (figure 4).

L'utilisation de la biocatalyse dans la synthèse de fragrances, telles que les dérivés α -méthyl dihydrocinnamaldéhydes, est aussi très attractive. Dans le cas de la synthèse du parfum de « lily-of-the-valley », sous la marque de Helional™ ou Lysmeral™, ou encore de la synthèse d'un ingrédient actif commun à plusieurs parfums, sous la marque Helional™

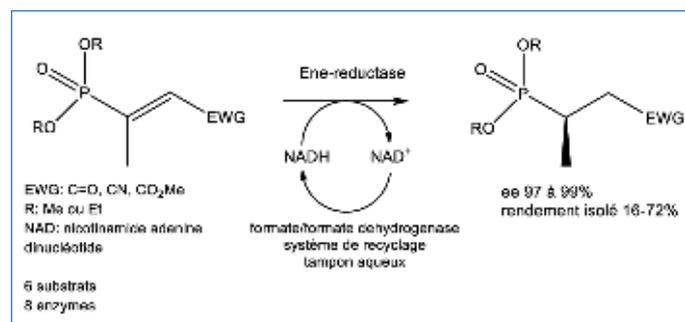


Figure 4 - Réduction asymétrique des dérivés vinylphosphonates par des ERED.

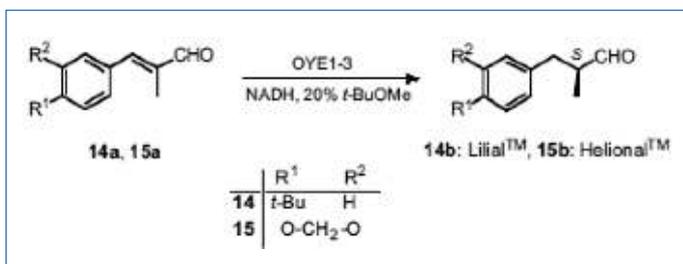


Figure 5 - Réduction asymétrique des dérivés dihydrocinnamaldehydes par des ERED.

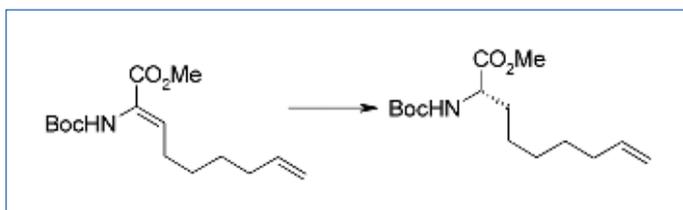


Figure 6 - Réduction d'un acide déhydro-aminé par des ERED.

ou Tropional™, l'approche biocatalytique a été décrite [12] (figure 5).

Par ailleurs, au sein de Seqens, nous avons réalisé la bioréduction asymétrique d'un acide déhydro-aminé pour la synthèse d'un analogue d'acide aminé (figure 6). Les ERED testées ont permis de réduire sélectivement une seule des fonctions alcènes.

À l'exception de deux enzymes, les ERED de notre collection ont toutes présenté une activité dans cette réaction, le taux de conversion lors de cette première série de criblage étant de 30 % environ, avec un degré d'énantiosélectivité élevé. L'optimisation des conditions enzymatiques est en cours d'étude. Il est à noter que cet acide aminé est actuellement produit industriellement par hydrogénation asymétrique catalysée par un sel de rhodium chiral [13] et est un synthon clé dans la synthèse du Danoprevir (figure 7), un antiviral repositionné pour traiter la Covid-19.

Pour démontrer la pertinence du processus biocatalytique par rapport à la catalyse métallique, une estimation des coûts a été réalisée. Pour se faire, seuls les coûts de matières premières ont été considérés. Dans le cas de la réaction catalysée par du rhodium, la charge en catalyseur a été fixée à 1,2 % mol, le recyclage du métal à 75 % et le prix du ligand n'a pas été considéré (pas disponible à l'échelle industrielle). Pour la réaction catalysée par une ERED, la charge en catalyseur (cellules entières sèches exprimant l'enzyme) a été fixée à 0,5 ou 3 % massique. Le prix du cofacteur a été inclus et la GDH (glucose déshydrogénase) utilisée pour le recyclage du cofacteur a été considérée comme coexprimée avec l'ERED (une seule fermentation, deux enzymes produites). L'impact du catalyseur sur le coût de fabrication de l'intermédiaire a été rapporté en fonction de la quantité d'intermédiaire produite (figure 8).

Cette estimation des coûts montre que d'après les hypothèses énoncées, la réaction enzymatique devient compétitive à partir de 0,5 t dans le meilleur des cas (prix du rhodium de 2020) alors que le prix du ligand n'est pas considéré. De plus, l'impact du catalyseur métallique sur le coût est guidé par le prix du métal et pas par l'échelle de la production, alors que dans le cas de la réaction biocatalysée, un fort effet d'échelle existe entre le prix de production du biocatalyseur et la quantité d'intermédiaire visée.

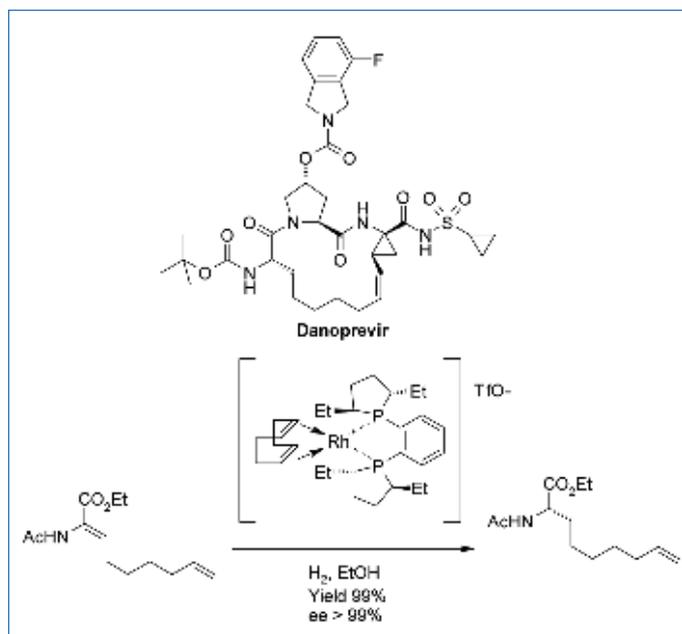


Figure 7 - Structure du Danoprevir et hydrogénation asymétrique d'un acide déhydro-aminé.

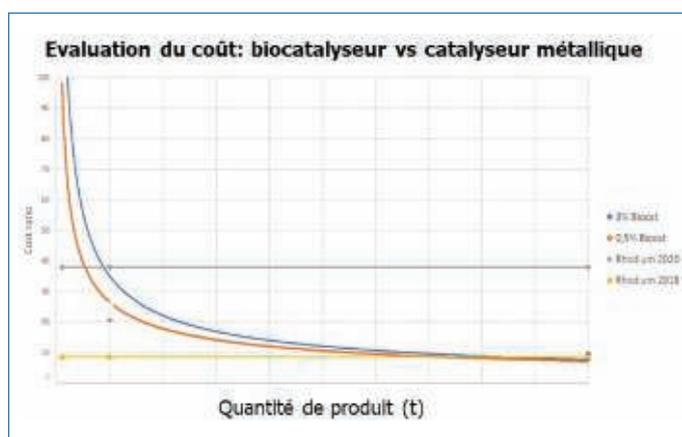


Figure 8 - Impact du prix du catalyseur par rapport à la quantité d'intermédiaire produite.

Finalement, cette estimation montre que le remplacement d'une réaction catalysée par un métal de transition par une réaction enzymatique peut résulter en un procédé compétitif selon l'échelle de production. Ceci est expliqué par la volatilité du prix des métaux de transition comparé aux prix stables des matières premières utilisées en fermentation (glucose, sels minéraux...). De plus, il existe un fort effet d'échelle avec une réduction de coût lors de la production d'un biocatalyseur, rendant ce dernier compétitif pour la production de l'intermédiaire à grande échelle. Pour atteindre une telle compétitivité, la réaction enzymatique devrait bien entendu être optimisée par rapport aux essais réalisés ici avec pour but d'augmenter la concentration en substrat, diminuer la charge en enzyme et assurer la sélectivité de l'enzyme.

Réduction asymétrique d'alcynes conjugués

La réduction par les ERED a été testée sur des alcynes conjugués à une cétone ou un ester (figure 9). Une telle réaction peut être effectuée en présence du catalyseur de Lindlar (palladium/BaSO₄). Cette transformation permet d'obtenir sélectivement les alcènes de géométrie Z à partir des alcynes correspondants. Toutes les enzymes se sont révélées actives sur les alcyones conjuguées, certaines conduisant à la réduction complète de la triple liaison, alors que d'autres ont permis

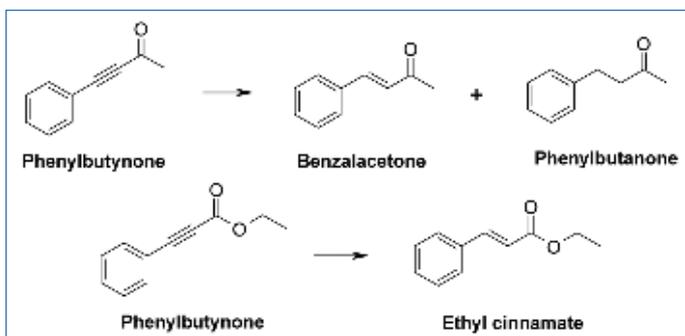


Figure 9 - Réduction d'alcynes conjugués par des ERED.

de former sélectivement l'alcène. L'isomère E est formé exclusivement avec l'ERED à la différence de l'hydrogénation en présence du catalyseur de Lindlar qui donne l'isomère Z. Concernant les alcyno-esters, seules trois ERED ont permis sa réduction en l'alcène E exclusivement (pas de trace d'alcane, conversion entre 33 et 72 %). La différence de réactivité entre les alcynones et les alcyno-esters peut s'expliquer par la différence d'électronégativité des groupements électro-attracteurs conjugués à l'alcène, modulant ainsi leur potentiel redox.

Réduction des cétones

Les alcool déshydrogénases (ADH) catalysent la réduction asymétrique de cétones. Il existe une grande diversité d'enzymes ADH qui, en général, acceptent un large panel de

substrats. Ce sont probablement les enzymes les plus largement utilisées en synthèse asymétrique pour des applications en chimie fine et pharmaceutique. L'un des avantages de la réduction enzymatique est la possibilité de prédire la stéréochimie du produit issu de la biotransformation basée sur le choix de l'enzyme et la configuration du substrat [14] (figure 10). Un grand nombre d'enzymes ADH suit la règle de Prelog.

Notons également que les enzymes ADH peuvent être utilisées dans le sens de l'oxydation des alcools en cétones ou aldéhydes [15].

Nous pouvons citer deux exemples industriels d'utilisation des ADH. Le premier exemple est la réduction asymétrique du 4-chloroacétoacétate pour obtenir la chaîne latérale statine : le (S)-4-chloro-3-hydroxybutyrate, qui est utilisé dans la synthèse de l'atorvastatine (anti-cholestérol). Le second exemple est celui utilisant la bioréduction d'une cétone pour obtenir le Montelukast (traitement de l'asthme) (figure 11).

Pour comparaison, en catalyse classique asymétrique, nous pouvons citer l'hydrogénation asymétrique réalisée par transfert d'hydrogène [16], utilisant par exemple les sels de formates et des catalyseurs à base de ruthénium, rhodium ou iridium.

Réduction d'étones

Enfin, dans la synthèse des dérivés caroténoïdes, le (4R,6R)-actinol est un intermédiaire utilisé industriellement. Celui-ci peut être obtenu par catalyse homogène avec du

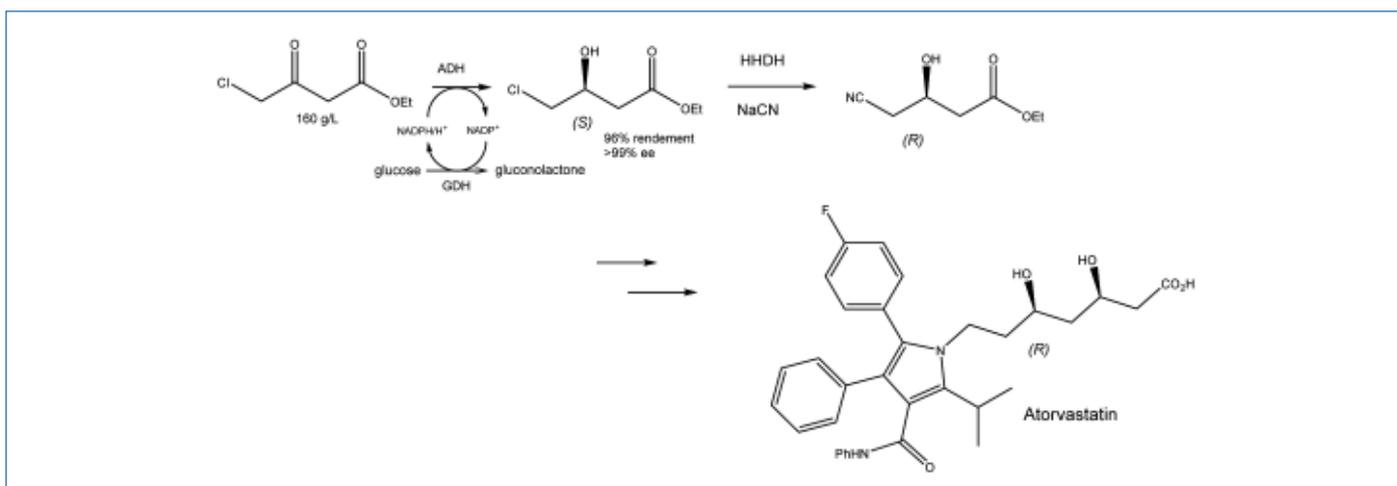


Figure 10 - Synthèse enzymatique du (S)-4-chloro-3-hydroxybutyrate avec une ADH.

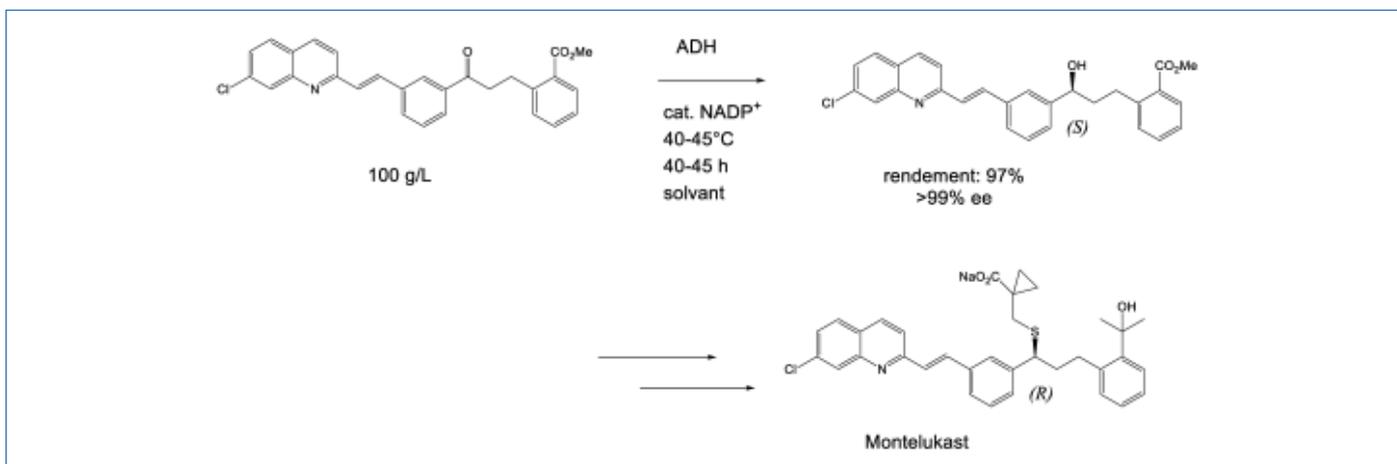


Figure 11 - Réduction enzymatique d'un intermédiaire du Montelukast avec une ADH.

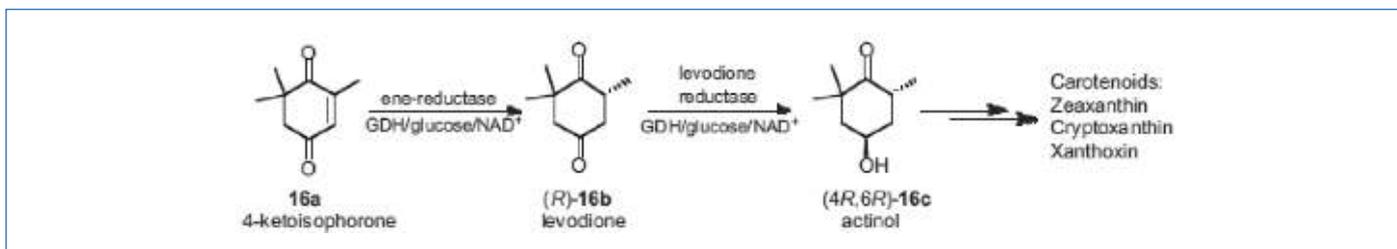


Figure 12 - Synthèse enzymatique du (6R)-levodione avec une ERED.

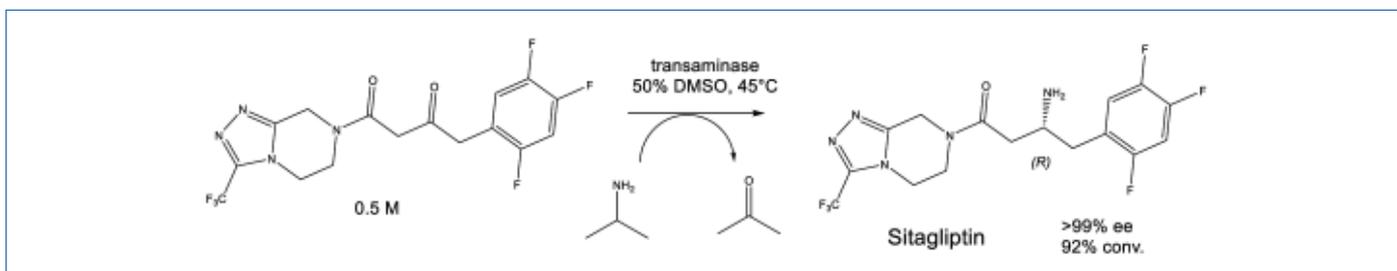


Figure 13 - Synthèse enzymatique de la sitagliptine avec une transaminase.

ruthénium [17], mais il est également possible de l'obtenir par une double réaction enzymatique, avec pour première étape l'utilisation d'une éne-réductase pour accéder au (6R)-levodione, suivie de la réduction d'une cétone de la dicétone par la levodione réductase [18] (figure 12).

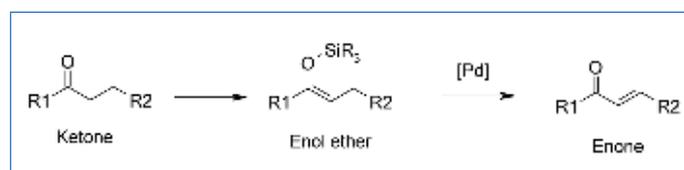


Figure 14 - Oxydation de Saegusa-Ito.

Amination asymétrique de cétones

Les amines chirales sont des structures représentées dans différents produits tels que des bioactifs pharmaceutiques, agrochimiques, etc. Parmi les stratégies classiques de synthèse d'amines primaires chirales (réaction de Mitsunobu, réaction de Gabriel...), une des stratégies les plus directes pour la synthèse d'amines chirales est l'amination réductrice de cétones prochirales. Une telle réaction peut être catalysée par des métaux de transition en présence d'hydrogène, mais peut être également réalisée par des transaminases et des amines déhydrogénases.

Par exemple, la synthèse biocatalytique industrielle de l'antidiabétique sitagliptine par Merck & Co Inc. témoigne de la forte valeur ajoutée des transaminases [19] pour accéder aux amines chirales primaires. Le précurseur de la sitagliptine est une cétone multifonctionnelle volumineuse. L'ingénierie des protéines a été nécessaire pour atteindre à la fois un haut niveau d'activité et de stéréosélectivité et rendre la transaminase active (figure 13). Le biocatalyseur modifié a subi vingt-sept mutations de ses résidus et a permis de convertir la cétone à une concentration de 0,5 M (250 g/L). La réaction s'est faite en présence de 1 M d'isopropylamine comme donneur d'amine, dans 50 % de DMSO, à 45 °C avec une stéréosélectivité parfaite (> 99 % ee) et un rendement de 90 %. Cet exemple est assez remarquable et est devenu une référence pour les biotransformations industrielles.

Désaturation de cétones (transformation de cétones en étones)

La réaction de Saegusa-Ito permet la transformation de cétones en étones conjuguées. La première étape consiste à convertir la cétone en éther d'énol, puis à oxyder ce dernier en énone grâce à un sel de Pd(II) (figure 14).

Une telle réaction est possible grâce à une éne-réductase de *Geobacillus kaustophilus* [20]. Cette enzyme a permis la formation d'étones cycliques à partir des cétones cycliques correspondantes et cette enzyme pourrait être une alternative potentielle au palladium. Au sein de Seqens, des résultats prometteurs ont été observés sur des cétones linéaires ou cycliques à six chaînons, mais dès lors que le groupement attracteur est moins fort (ester vs cétone) ou que le cycle est à cinq chaînons, la réaction ne fonctionne pas.

Par ailleurs, différents stéroïdes présentant une fonction cétone en position 3 ont été traités dans les conditions de désaturation (figure 15). Dans les cas de la testostérone, de la stanolone et de l'androstènedione, la désaturation prend place uniquement en position 1-2. En effet, l'oxydation de la stanolone ne conduit pas à la formation de testostérone ou de boldénone. Dans le cas de l'androstènedione et l'androstadiènedione, aucune trace de produit insaturé n'a été observée en position 15-16 du cycle D à cinq chaînons.

Malgré des résultats prometteurs et des conditions relativement douces (pas de métal, pH 7, 70 °C), la réaction est limitée en termes de tolérance de substrat. Cette réaction fonctionne bien sur des composés de type stéroïde, mais dès lors que le cycle est plus contraint, la réaction n'a pas lieu.

La puissance des cascades enzymatiques, et à la découverte de réactions encore inaccessibles

Ces différents exemples démontrent qu'un grand nombre de réactions catalysées par des métaux de transition peuvent être remplacées par des réactions enzymatiques.

La stratégie pour la mise en œuvre pratique de ces réactions biocatalysées repose le plus souvent sur la méthode qui consiste, en fonction de la réaction et du substrat considérés,

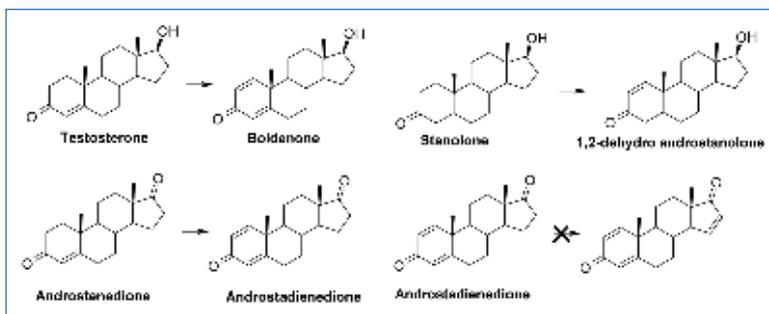


Figure 15 - Désaturation de stéroïdes en position 1-2 par des ERED.

à un criblage d'enzymes sélectionnées, afin de rapidement évaluer la faisabilité technique du remplacement d'un métal de transition.

Pour l'implémentation des procédés industriels, l'ensemble des étapes de la voie de synthèse, y compris la disponibilité du substrat, doit être pris en compte dès le début du développement du procédé, afin de s'assurer de la meilleure conception de la voie en intégrant l'approche biocatalytique. Il est également important de souligner le fait que les sélectivités des enzymes sont souvent excellentes, et que les chercheurs sont moins concernés par la productivité et la stabilité opérationnelle des enzymes ; ces indicateurs doivent alors être poursuivis par les groupes industriels afin d'atteindre le besoin de STY élevés et de compétitivité économique.

L'avenir de la biocatalyse est très prometteur ! Non seulement pour accroître continuellement les succès industriels et académiques, souvent grâce à des collaborations fructueuses, mais aussi grâce à l'accélération des connaissances sur les enzymes et les développements scientifiques qui confortent cette belle dynamique.

Le champ d'applications de la biocatalyse s'étend très rapidement. Le nombre de biotransformations désormais connues en concevant de nouveaux biocatalyseurs, ou grâce à l'exploration de la biodiversité des enzymes, se rapproche à grand pas des méthodes chimiques déjà existantes pour créer des liaisons dont on ne soupçonnait pas l'existence il y a encore quelques années [21]. Quelques exemples remarquables dont ceux issus des travaux de Frances H. Arnold [22] montrent qu'il est désormais possible de réaliser un cyclopropane sur une double liaison, via un transfert de carbène par voie enzymatique, ou bien encore de former une liaison carbone-silicium. Il est réjouissant de constater le développement important des métalloenzymes artificielles, le plus souvent à base de peptides. En effet, de nombreuses publications apparaissent, et les travaux récemment publiés par D. Hilvert [23] sur l'évolution du concept d'évolution dirigée et la performance de ces nouveaux « biocatalyseurs », que ce soit en termes d'activité ou d'énantiosélectivité, ont pu être obtenus.

Dans l'immédiat, nous voyons deux tendances grandissantes, la première étant la possibilité de réaliser des réactions biocatalytiques en cascade, dont les bénéfices peuvent être énormes. Un exemple remarquable très récent est le développement d'une cascade biocatalytique pour la synthèse de l'islatravir pour le traitement du VIH. Les chercheurs de chez Merck ont assemblé un total de neuf enzymes dont cinq enzymes optimisées et quatre enzymes auxiliaires supplémentaires pour donner l'islatravir avec un rendement global de 51 % sous la forme d'un seul isomère en solution aqueuse. Ce travail montre vraiment la puissance des cascades enzymatiques pour la synthèse de molécules complexes [24]. Cette

méthode permet de ne pas avoir à isoler les intermédiaires réactionnels.

Enfin, la combinaison des enzymes avec d'autres types de catalyseurs chimiques est également en plein essor. Le champ de la catalyse hybride et d'une nouvelle classe de catalyseurs, les catalyseurs hybrides, associant enzyme et catalyseur hétérogène, est actuellement exploré [25].

Sur le plan académique principalement, l'étude de cette combinaison de catalyses pourrait conduire à la découverte de réactions qui ne sont pas encore accessibles avec l'un ou l'autre type de catalyseur seul.

(1) Prix Nobel reçu aux côtés de Gregory Winter et Georges P. Smith pour leur travaux sur l'évolution dirigée de peptides et des anticorps via des phages.

[1] S. Wu, R. Snajdrova, J.C. Moore, K. Baldenius, U.T. Bornscheuer, Biocatalysis: enzymatic synthesis for industrial applications, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, *60*, p. 88-119.

[2] M.A. Huffman *et al.*, Design of an in vitro biocatalytic cascade for the manufacture of islatravir, *Science*, **2019**, *366*, p. 1255-59.

[3] J.R. Marshall, J. Mangas-Sanchez, N.J. Turner, Expanding the synthetic scope of biocatalysis by enzyme discovery and protein engineering, *Tetrahedron*, **2021**, *82*, 131926.

[4] E.M.M. Abdelraheem, H. Busch, U. Hanefeld, F. Tonin, Biocatalysis explained: from pharmaceutical to bulk chemical production, *React. Chem. Eng.*, **2019**, *4*, p. 1878-94.

[5] V.S. Shende, P. Singh, B. M. Bhanage, Recent trends in organocatalyzed asymmetric reduction of prochiral ketones, *Catal. Sci. Technol.*, **2018**, *8*, p. 955-969.

[6] H. Yamada, M. Kobayashi, Nitrile hydratase and its application to industrial production of acrylamide, *Biosci., Biotechnol., Biochem.*, **1996**, *60*, p. 1391-1400.

[7] B. Hauer, Embracing Nature's catalysts: a viewpoint on the future of biocatalysis, *ACS Catal.*, **2020**, *10*, p. 8418-27.

[8] B. Kuhlman, P. Bradley, Advances in protein structure prediction and design, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **2019**, *20*, p. 681-697.

[9] C.K. Winkler, K. Faber *et al.*, Chemoenzymatic asymmetric synthesis of Pregabalin precursors via asymmetric bioreduction of β -cyanoacrylate esters using ene-reductases, *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, p. 1525-33.

[10] I. Janicki, P. Kielbasinski, N.G. Turrini, K. Faber, M. Hall, Asymmetric bioreduction of β -activated vinylphosphonate derivatives using ene-reductases, *Adv. Synth. & Catal.*, **2017**, *359*, p. 4190-96.

[11] Y. Huangl, Asymmetric hydrogenation of α,β -unsaturated ester-phosphonates, *Adv. Synth. & Catal.*, **2009**, *357*, p. 1423-30.

[12] C. Stueckler *et al.*, Bioreduction of α -methylcinnamaldehyde derivatives: chemoenzymatic asymmetric synthesis of LilialTM and HelionalTM, *Dalton Trans.*, **2010**, *39*, p. 8472-76.

[13] A.-M. Faucher *et al.*, Synthesis of BILN 2061, an HCV NS3 protease inhibitor with proven antiviral effect in humans, *Org. Lett.*, **2004**, *6*, p. 2901-04.

[14] M. Hall, Enzymatic strategies for asymmetric synthesis, *RSC Chem. Biol.*, **2021**, *2*, p. 958-989.

[15] C.C. Gruber, I. Lavandera, K. Faber, W. Kroutil, From a racemate to a single enantiomer: deracemization by stereoinversion, *Adv. Synth. Catal.*, **2006**, *348*, p. 1789-1805.

[16] P.A. Dub *et al.*, Enantioselectivity in the Noyori-Ikariya asymmetric transfer hydrogenation of ketones, *Organometallics*, **2021**, *40*, p. 1402-10.

[17] Hoffmann-La Roche AG, EP915076.

[18] M. Wada *et al.*, Production of a doubly chiral compound, (4R,6R)-4-hydroxy-2,2,6-trimethylcyclohexanone, by two-step enzymatic asymmetric reduction, *Appl. & Env. Microbiology*, **2003**, *69*, p. 933-937.

[19] C.K. Savile *et al.*, Biocatalytic asymmetric synthesis of chiral amines from ketones applied to Sitagliptin manufacture, *Science*, **2010**, *329*, p. 305-309.

[20] M. Schittmayer, M. Winkler *et al.*, Old yellow enzyme-catalyzed dehydrogenation of saturated ketones, *Adv. Synth. Catal.*, **2011**, *353*, p. 268-274.

[21] U. Hanefeld, F. Hollmann, C.E. Paul, Biocatalysis making waves in organic chemistry, *Chem. Soc. Rev.*, **2022**, *51*, p. 594-627.

[22] F.H. Arnold, Directed evolution: bringing new chemistry to life, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, *57*, p. 4143-48.

[23] S. Studer, D. Hilvert *et al.*, Evolution of a highly active and enantiospecific metalloenzyme from short peptides, *Science*, **2018**, *362*, p. 1285-88.

[24] M.A. Huffman *et al.*, Design of an in vitro biocatalytic cascade for the manufacture of islatravir, *Science*, **2019**, *366*, p. 1255-59.

[25] D.P. Debecker *et al.*, Hybrid chemoenzymatic heterogeneous catalysts, *Current Opinion in Green & Sustainable Chemistry*, **2021**, *28*, 100437.

Juliette MARTIN*, R&D Partnerships Manager, et Pierre GILLES, Project Manager, Protéus by Seqens, Seqens.

* Juliette.Martin@seqens.com
www.seqens.com/fr/