

La nature fait bien les choses

Quand la chimie s'en inspire...

Résumé Léonard de Vinci disait : « *Va prendre tes leçons dans la nature, c'est là qu'est notre futur.* » Cette citation prend tout son sens lorsqu'on pense à la chimie bio-inspirée. Il s'agit d'un domaine en pleine expansion où le travail des chimistes consiste à s'inspirer des phénomènes chimiques qui se produisent dans la nature, à les comprendre et à essayer de les reproduire afin de synthétiser des catalyseurs efficaces pour l'activation et la réduction de petites molécules telles que les protons ou le dioxygène. C'est pourquoi synthétiser des modèles de l'hydrogénase à NiFe, enzyme qui catalyse, de manière réversible, la réduction des protons en dihydrogène, intéresse particulièrement les chimistes. En reproduisant les éléments clés du site actif de ces enzymes au sein d'une molécule de synthèse, on peut alors développer de nouveaux catalyseurs à base de métaux non nobles pour la réduction des protons. D'autre part, l'activation et la réduction de O₂ par des complexes de manganèse contribue à comprendre quels sont les facteurs qui favorisent une réduction bi- ou tétra-électronique de O₂ pour produire soit H₂O₂, soit H₂O.

Mots-clés Chimie bio-inspirée, électrochimie, catalyse.

Abstract Nature knows how to do the job... and it does it right

Leonardo da Vinci used to say: « *Learn from Nature, it is in it that we'll find the future.* » This quote makes sense when we think about bio-inspired chemistry. It is a field in great expansion where the chemists' job is to be inspired by the chemical phenomena that occur in nature, to understand and to try to reproduce them in order to synthesize efficient catalysts for the activation and the reduction of small molecules such as protons or dioxygen for example. This is why in synthesizing a model of the NiFe hydrogenase, enzyme which reversibly catalyses proton reduction in dihydrogen, is particularly interesting for chemists. By reproducing in a synthetic molecule key elements of the active site of these enzymes, new catalysts using non-noble metals for proton reduction can be developed. The activation and the reduction of O₂ by manganese complexes in order to understand which factors promote a bi- or a tetra-electronic reduction of O₂ leading to the production of H₂O₂ or water have been synthesized and characterized.

Keywords Bio-inspired chemistry, electrochemistry, catalysis.

La chimie bio-inspirée

Le risque d'épuisement des ressources fossiles combiné aux problèmes environnementaux (émissions de CO₂) témoigne du caractère non durable du modèle énergétique actuel. Dans un contexte où la demande en énergie est toujours croissante, il devient nécessaire d'orienter cette transition énergétique vers un nouveau modèle, impliquant de nouvelles sources d'énergie alternatives, pour stopper l'actuelle dépendance aux énergies fossiles, génératrices de pollution.

L'hydrogène moléculaire (H₂) représente un vecteur énergétique idéal, et plus spécifiquement dans le secteur des transports. Utilisé dans une pile à combustible, il permet la production d'électricité de manière propre et efficace, avec l'eau comme seul déchet. Néanmoins, contrairement aux énergies renouvelables ou fossiles, H₂, sous sa forme moléculaire réduite, n'est pas directement disponible dans la nature. Il n'est présent que sous forme oxydée comme dans H₂O ou dans les molécules organiques de la biomasse. Ainsi, bien que l'utilisation de H₂ pose de nombreuses problématiques comme son stockage ou sa distribution, sa production reste un défi majeur car des réservoirs « indirects » de H₂ doivent être utilisés. De nos jours, 95 % de H₂ est produit par reformage des hydrocarbures (principalement le gaz naturel) [1]. Bien que ce processus reste actuellement le moins cher, il produit du dioxyde de carbone (CO₂). Par conséquent, ce procédé ne s'inscrit pas dans un schéma de développement durable et ne constitue pas une alternative à notre dépendance aux énergies fossiles.

Une façon non polluante de produire H₂ se fait par électrolyse de l'eau, en utilisant l'électricité qui provient elle-même de ressources d'énergie renouvelables (solaire, éolienne, etc.). Cependant, le catalyseur le plus utilisé dans les systèmes d'électrolyse à membrane polymère, du fait de son bon rendement et de son adaptabilité aux énergies renouvelables intermittentes, est composé de platine qui est un métal noble. Or, les ressources en platine sont limitées et le procédé est trop coûteux pour être utilisé à grande échelle. Dans ce contexte, la recherche de nouveaux catalyseurs qui ne contiennent pas de platine représente un défi majeur pour les chimistes.

Depuis des millions d'années, la nature a su développer des « machines » incroyables. Nous, scientifiques, l'avons bien compris. Notre objectif est donc de comprendre et/ou de mimer si possible les phénomènes qui se produisent dans la nature. Comment les plantes produisent-elles O₂ à partir de CO₂ et H₂O, ou encore comment les bactéries peuvent-elles produire H₂ ou de l'ammoniac de manière simple et efficace ? Pour réaliser ces transformations chimiques essentielles, la nature a recours à des enzymes. Ce sont des protéines contenant généralement un ion métallique (métalloenzymes), fabriquées par un organisme vivant, et dont le site actif a pour rôle d'accélérer une réaction chimique spécifique en abaissant son énergie d'activation. En tant que catalyseurs, ces enzymes sont restituées à la fin du processus. Les sites actifs peuvent être considérés comme des complexes inorganiques organisés et sophistiqués, dans lesquels l'ion métallique est directement lié à la protéine principalement par l'intermédiaire d'un

atome d'azote, d'oxygène et, dans une moindre mesure, par des atomes de soufre issus des acides aminés. Parmi les vingt acides aminés, seuls deux contiennent des atomes de soufre sous forme de fonction thiolate (cystéine) et de thioéther (méthionine), la cystéine étant majoritairement présente comme ligand dans les systèmes biologiques.

La cystéine figure parmi les acides aminés les moins abondants mais est le plus souvent hautement conservée dans le site actif des protéines. Sous sa forme thiolate (pKa ~ 8,5), on la trouve soit en tant que ligand monodentate, soit en tant que ligand pontant entre deux centres métalliques. Cette fonction thiolate présente des propriétés particulières qui permettent de conférer au centre métallique les propriétés désirées pour la réactivité ciblée : nucléophilicité (cinétique), haute affinité pour les ions métalliques, et/ou capacité de former des ponts disulfures.

Il a été estimé que plus de 50 % des protéines sont des métalloprotéines, pour lesquelles le métal est le plus souvent essentiel dans les réactions réalisées au sein du site actif comme le transfert d'électron ou l'activation de petites molécules (O₂, H₂, N₂...) entre autres.

Le but du chimiste est de s'inspirer de ces métalloenzymes en mimant, *via* des complexes moléculaires modèles, la structure et/ou la fonction du site actif d'une protéine d'intérêt à travers ses propriétés chimiques (propriétés électroniques, redox, réactivité). Ces modèles permettent de comprendre les systèmes biologiques par l'analyse du mécanisme à l'échelle moléculaire (caractérisation d'intermédiaires réactionnels) ainsi que le développement de nouveaux catalyseurs inspirés de ces systèmes. Dans ce contexte, les chimistes développent des séries de molécules modèles contenant l'ion métallique d'intérêt (sous une forme complexée) dans le but de comprendre et d'optimiser leur réactivité. En étudiant ces complexes modèles par des méthodes analytiques, spectroscopiques et théoriques, nous pouvons ainsi déterminer les facteurs structuraux, électroniques et redox nécessaires à leur réactivité (efficacité, sélectivité, spécificité).

Dans le contexte de cette thèse, nous nous sommes intéressés à comprendre le rôle des liaisons métal-thiolates au sein des métalloenzymes en utilisant une approche bio-inspirée pour l'activation des petites molécules telles que les protons et O₂ [2]. Cet article présente une partie de mes travaux de thèse qui s'insèrent dans un contexte sociétal actuel où l'utilisation d'énergie propre est fondamentale.

L'hydrogénase à NiFe

La nature a développé des catalyseurs actifs pour la production de H₂ : les hydrogénases. Il en existe deux classes, basées sur les métaux qui composent leur site actif : les hydrogénases [Fe-Fe] et les hydrogénases [Ni-Fe] [3]. Les hydrogénases catalysent la réduction réversible des protons en H₂ (réaction 1) à des fréquences catalytiques très élevées – jusqu'à 3 x 10⁴ cycles catalytiques par seconde à 30 °C – et à un potentiel proche de l'équilibre (- 400 mV_{ESH}, pH = 7) :



Notons que leurs performances rivalisent avec celles des catalyseurs à base de platine. Mais les hydrogénases naturelles sont coûteuses à isoler et à faire fonctionner dans leur environnement naturel (bactéries).

La première structure du site actif de l'hydrogénase à [NiFe] a été caractérisée en 1995 par Volbeda *et coll.* [4]. Il s'agit d'un

complexe original hétérobimétallique de NiFe composé d'un ion Fe coordonné à un ligand CO et à deux ligands CN⁻, et d'un ion Ni coordonné à quatre résidus cystéines, dont deux forment un pont entre les deux métaux (*figure 1*).

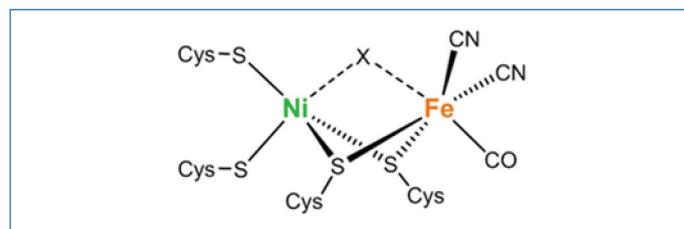


Figure 1 - Représentation du site actif de l'hydrogénase à [NiFe]. X = aucun ou H.

Reproduire la structure et les fonctions du site actif de l'hydrogénase [NiFe] par des mimes artificiels [5-7] représente un réel défi pour les chimistes du fait de sa structure dissymétrique originale, et un enjeu du fait de sa grande réactivité, notamment pour le développement d'applications technologiques pour la production de H₂. Malgré les grandes avancées dans la conception de modèles moléculaires dont la réactivité est localisée sur l'atome de Fe, il n'existe toujours pas de complexes qui miment précisément la structure et la réactivité centrée sur l'atome de Ni du site actif de l'hydrogénase [Ni-Fe]. Pour développer des complexes modèles efficaces de l'hydrogénase [NiFe], la réactivité doit être localisée sur l'atome de Ni grâce à un environnement adéquat. La conception du ligand est donc primordiale dans le sens où il doit stabiliser l'ion Ni à différents degrés d'oxydation, tout en maintenant un système hétérodinucléaire stable. C'est pourquoi le ligand bispyridine-bisthiolate que nous avons choisi est particulièrement intéressant car il permet la formation de complexes de Ni stables aux trois degrés d'oxydation du Ni, de +I à +III. Parallèlement, le synthon {FeCpCO}⁺, où Cp représente le ligand cyclopentadiényle, a déjà été utilisé comme substitut afin de mimer la partie {FeCO(CN)₂} de l'enzyme pour la conception de modèles NiFe (*figure 2*) [8].

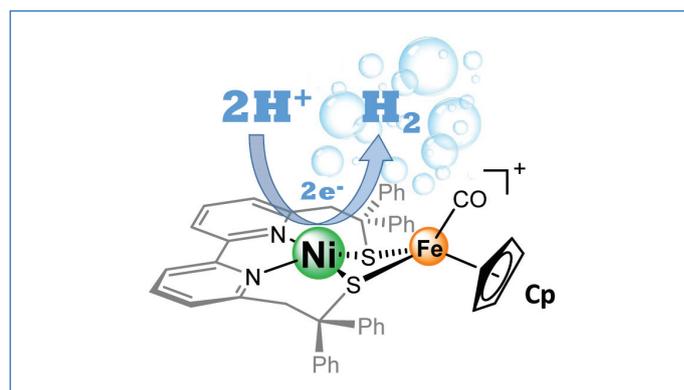


Figure 2 - Schéma représentant le complexe de NiFe, mimant l'hydrogénase naturelle et catalyseur actif pour la production de l'hydrogène. Cp : ligand cyclopentadiényle.

Dans ce contexte, nous avons synthétisé un complexe hétérodinucléaire de NiFe mimant le site actif de l'hydrogénase à NiFe, qui produit H₂ de manière catalytique et dont la réactivité a été partiellement recentrée sur l'atome de Ni, comme dans l'enzyme. Ce composé possède les meilleures performances catalytiques en tant que modèle structural et fonctionnel parmi les systèmes reportés dans la littérature [7]. Nous avons été en mesure de détecter deux intermédiaires réactionnels impliqués dans la production d'hydrogène qui reproduisent les états structuraux et électroniques des états

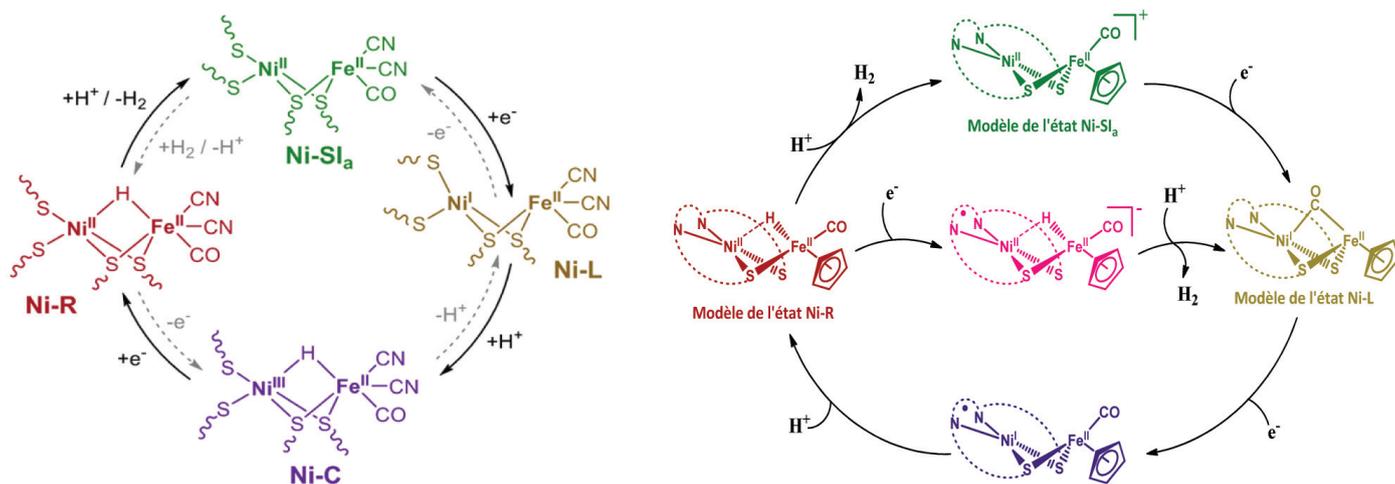


Figure 3 - À gauche : cycle catalytique de l'enzyme naturelle. Même si le mécanisme catalytique de la réduction des protons n'est pas entièrement connu, il a été montré qu'il existe trois états intermédiaires actifs impliqués durant la catalyse, soit Ni-L où Ni^{II} est réduit en Ni^I (jaune), puis Ni-C (violet) après que Ni-L a réagi avec H⁺ pour former une espèce Ni^{III}Fe^{II} avec un hydrure pontant, enfin Ni-R (rouge) où Ni-C est réduit pour former une espèce Ni^{III}Fe^{II} avec un hydrure pontant. C'est ce dernier intermédiaire qui forme H₂ et redonne le complexe initial. Au cours de cette catalyse, la réactivité est centrée sur Ni, seul ion dont le degré d'oxydation change. À droite : schéma des modèles obtenus à partir du complexe de NiFe synthétisé. Mécanisme inspiré du précédent pour le complexe de NiFe modèle. Basé sur des résultats expérimentaux et associés à des calculs théoriques, un mécanisme électrocatalytique (à partir de mesures électrochimiques) a été proposé, avec deux chemins possibles. Celui du haut est le mécanisme énergétiquement le moins favorable en comparaison avec celui du milieu. Contrairement à l'enzyme, une double réduction est nécessaire pour observer une activité catalytique. La première étape où Ni^{II} est réduit en Ni^I est commune à celle de l'enzyme, mais ici les électrons proviennent de la cathode. La deuxième étape consiste en une réduction centrée sur le ligand bipyridine (bleu). La formation d'un intermédiaire de type Ni-C est contournée dans notre système. Au cours de la troisième étape, l'espèce doublement réduite (bleu) réagit avec un proton pour donner l'espèce Ni^{III}Fe^{II} où Ni est coordonné à un hydrure (rouge). Enfin cette espèce réagit avec un proton pour libérer H₂. L'autre chemin, plus stable d'un point de vue énergétique, nécessite une réduction supplémentaire avant de réagir avec un proton pour libérer H₂.

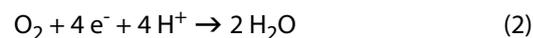
de l'enzyme (Ni-L et Ni-R) (figure 3). Une étude théorique mécaniste réalisée par Hall *et coll.* a révélé que le ligand hydrure est pontant entre les deux ions métalliques (au lieu de la liaison terminale de Ni comme suggéré dans l'étude initiale), ce qui est rendu possible grâce à l'hémilabilité des dithiolates pontants. Cette espèce d'hydrure Ni^{III}Fe^{II} nécessite une activation réductrice supplémentaire avant que l'évolution H₂ ne puisse se produire [9].

La vitesse de catalyse de ce composé pour la production de H₂ montre qu'il existe une synergie des ions Ni et Fe pour cette réactivité. En effet, le complexe mononucléaire de Ni présente une activité dix fois moins importante que le dimère de NiFe, et cette activité est nulle pour le monomère de Fe. Ce complexe de NiFe est donc le premier modèle où l'activité redox est centrée sur le Ni.

Comment activer O₂, molécule inerte ?

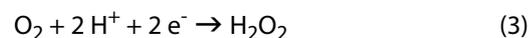
L'activation de O₂ est une étape critique dans de nombreux processus biologiques fondamentaux [10]. En effet, l'oxygène représente 21 % des composants de l'air que nous respirons. Il est nécessaire à la survie de nombreuses espèces vivantes comme les animaux, les plantes, les bactéries aérobies, pour la production d'énergie ou le métabolisme par exemple. L'oxygène présent dans notre atmosphère est l'élément qui permet la formation d'un gradient d'énergie responsable du maintien de la vie sur Terre à travers le processus biologique de la photosynthèse. Les organismes photosynthétiques utilisent l'énergie éphémère contenue dans un photon en rompant et formant des liaisons chimiques. Ces organismes génèrent O₂ grâce à l'oxydation de l'eau. Les électrons libérés au cours de ce processus sont utilisés pour réduire le carbone inorganique en carbone organique dans le but de générer de nouvelles molécules. Cette énergie redox stockée peut être libérée par l'oxydation des nouvelles molécules synthétisées, permettant ainsi à l'oxygène d'être réduit à quatre électrons en présence

de protons pour générer H₂O (réaction 2). Ce phénomène est communément appelé respiration aérobie.



La réduction de O₂ à quatre électrons est également impliquée pour la génération électrique d'énergie dans les systèmes de piles à combustible [11]. Ces piles se divisent en deux compartiments (anode et cathode) reliés par des membranes représentant l'électrolyte. Les protons issus de l'hydrogène, H₂, oxydé à l'anode traversent la membrane pour se retrouver du côté de la cathode. Les électrons, quant à eux, empruntent un circuit extérieur en générant un courant électrique. Ils vont ainsi se retrouver du côté de la cathode et participer à la réduction de O₂ selon la réaction 2.

L'oxygène peut être également réduit à deux électrons, générant ainsi H₂O₂ qui est un agent oxydant polyvalent et peu toxique pour l'environnement (réaction 3) :



Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ se trouve être également un bon candidat comme vecteur énergétique dans les piles à combustible grâce à sa haute densité énergétique du fait de son état liquide à température ambiante. L'avantage d'utiliser H₂O₂ comme vecteur énergétique est que les sous-produits redox sont O₂ et H₂O. Il peut être considéré comme une alternative énergétique au pétrole ou à H₂.

Par ailleurs, les métaux de transition sont connus pour leur capacité à faciliter et à contrôler l'activation de O₂. Comment celui-ci peut être activé par des complexes métalliques demeure une question centrale pour les chimistes [2, 12-13]. Dans ce contexte, l'étude de systèmes homogènes (en solution sans électrodes) à base de métaux de transition est particulièrement intéressante pour clarifier les détails mécanistiques de l'activation de O₂. Comprendre le rôle de l'ion métallique et le mécanisme à l'échelle moléculaire, plus particulièrement par la caractérisation d'intermédiaires réactionnels, est crucial

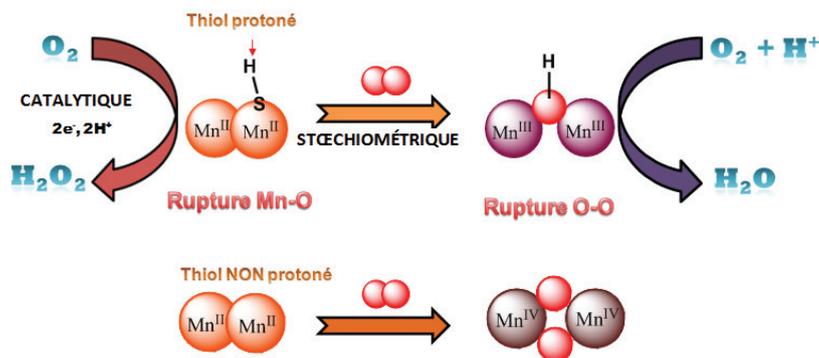
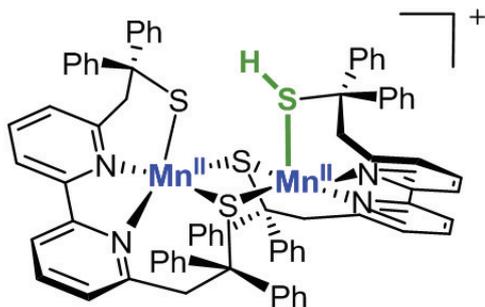


Figure 4 - À gauche : représentation du dimère de Mn^{II} où le thiol est protoné (hydrogène en rouge). À droite : schéma montrant la réactivité du complexe de Mn^{II} avec O_2 (boule rouge). En condition catalytique, le complexe de Mn^{II} catalyse la réduction de O_2 en H_2O_2 en présence d'électrons fournis par l'agent réducteur sacrificiel (octaméthylferrocène) et de protons (2,6-lutidinium tétrafluoroborate). Au cours de ce processus, on observe une coupure de la liaison Mn-O conduisant à une réduction à deux électrons de O_2 en H_2O_2 . En condition stœchiométrique, lorsque le thiolate est protoné, le dimère de Mn^{III} est formé puis réagit avec un proton conduisant à la formation de H_2O résultant d'une coupure O-O. Lorsque le thiolate est déprotoné à l'aide d'une base (NaH) et en présence de O_2 , il se forme un dimère de Mn^{IV} bis μ -oxo. L'état de protonation du thiol joue donc un rôle primordial dans la réactivité de ce complexe de Mn^{II} .

pour le développement de catalyseurs efficaces. Il est aussi important de comprendre quels sont les facteurs qui vont favoriser une réduction de O_2 à deux électrons donnant H_2O_2 ou à quatre électrons donnant H_2O [12].

C'est dans ce contexte, au travers d'études spectroscopiques (absorption et diffraction des rayons X, électrochimie, absorption UV-visible) combinées à des études de chimie théorique, que nous avons montré qu'un complexe dinucléaire de Mn^{II} à ligand thiolate était capable de catalyser la réduction de O_2 en présence d'un excès de protons et d'un agent réducteur sacrificiel (molécule fournissant irréversiblement des électrons) de manière efficace et sélective pour la formation de H_2O_2 (figure 4). Il a été aussi mis en évidence que ce même complexe, en fonction de son état initial de protonation, contrôlait de manière sélective la formation de complexes à haut degré d'oxydation de Mn avec O_2 : soit un complexe dinucléaire de Mn^{IV} avec deux ponts oxo, soit un complexe dinucléaire de Mn^{III} à pont hydroxo (lorsque le ligand thiolate est protoné) [13].

Chimie bio-inspirée et transition écologique...

L'objectif de ce travail de thèse était d'améliorer les connaissances sur le rôle des liaisons métal-thiolates au sein des métalloenzymes en utilisant une approche bio-inspirée par l'étude des propriétés structurales et électroniques de modèles chimiques, ainsi que de leur réactivité. Les projets développés ont traité de complexes modèles de l'hydrogénase [NiFe] et de catalyseurs à base de manganèse pour la réduction de O_2 . La nature a encore de nombreuses choses à nous apprendre. À nous d'en tirer les avantages et bénéfices pour une chimie verte plus durable.

[1] Association française pour l'hydrogène et les piles à combustible (AFHYPAC), *Mémento de l'Hydrogène*, 2014, 3.1.1, www.afhypac.org/documents/tout-savoir/fiche_3.1.1_production_partir_de_fossiles_rev.sept2014_ta.pdf

[2] Brazzolotto D., Activation de petites molécules par des complexes bio-inspirés à liaisons métal-thiol, Thèse de l'Université Grenoble Alpes, 2016.

[3] Lubitz W., Ogata H., Rüdiger O., Reijerse E., Hydrogenases, *Chem. Rev.*, 2014, 114, p. 4081.

[4] Volbeda A., Charon M.-H., Piras C., Hatchikian E.C., Frey M., Fontecilla-Camps J.C., Crystal structure of the nickel-iron hydrogenase from *Desulfovibrio gigas*, *Nature*, 1995, 373, p. 580.

[5] Tard C., Pickett C.J., Structural and functional analogues of the active sites of the [Fe]-[NiFe]-, and [FeFe]-hydrogenases., *Chem. Rev.*, 2009, 109, p. 2245.

[6] Ohki Y., Tatsumi K., Thiolate-bridged iron-nickel models for the active site of [NiFe] hydrogenase, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2011, p. 973.

[7] Brazzolotto D., Gennari M., Queyriaux N., Simmons T.R., Pécaut J., Demeshko S., Meyer F., Orio M., Artero V., Duboc C., Nickel-centred proton reduction catalysis in a model of [NiFe] hydrogenase, *Nat. Chem.*, 2016, 8, p. 1054.

[8] Canaguier S., Artero V., Fontecave M., Modelling NiFe hydrogenases: nickel-based electrocatalysts for hydrogen production, *Dalt. Trans.*, 2008, p. 315.

[9] Tang H., Hall M.B., Biomimetics of [NiFe]-hydrogenase: nickel- or iron-centered proton reduction catalysis?, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, 139, p. 18065.

[10] Hohmann-Marriott M.F., Blankenship R.E., Evolution of photosynthesis, *Ann. Rev. Plant Biol.*, 2011, 62, p. 515.

[11] de Poulpiquet A., Biopiles enzymatiques H_2/O_2 : nanostructuration de l'interface électrochimique pour l'immobilisation des enzymes redox, *L'Act. Chim.*, 2016, 411, p. 17.

[12] Gennari M., Brazzolotto D., Pécaut J., Cherrier M.V., Pollock C.J., DeBeer S., Retegan M., Pantazis D.A., Neese F., Rouziers M. et al., Dioxygen activation and catalytic reduction to hydrogen peroxide by a thiolate-bridged dimanganese(II) complex with a pendant thiol, *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, 137, p. 8644.

[13] Brazzolotto D., CantúReinhard F.G., Smith-Jones J., Retegan M., Amidani L., Faponle A.S., Ray K., Philouze C., DeVisser S.P., Gennari M. et al., A high-valent non heme μ -oxo Mn^{IV} dimer generated from a thiolate-bound Mn^{II} complex and O_2 , *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2017, 56, p. 8211.

Deborah BRAZZOLOTTO

effectue actuellement un stage post-doctoral dans le Département de chimie de l'Université de Californie à Irvine (États-Unis).

Elle a reçu le **Prix de thèse 2017 de la division de Chimie physique de la Société Chimique de France**. Sa thèse, financée par le Labex ARCANÉ, a été encadrée par Carole Duboc et Marcello Gennari, Équipe Cire, Département de Chimie Moléculaire, Université Grenoble Alpes, CNRS UMR 5250, Grenoble.



* deb.brazzolotto@gmail.com