



L'avènement des matériaux multi-catalytiques hybrides, vers une combinaison optimale des catalyseurs

Egon Heuson, Rénato Froidevaux, Ivaldo Itabaiana Junior, Robert
Wojcieszak, Franck Dumeignil, Mickaël Capron

► To cite this version:

Egon Heuson, Rénato Froidevaux, Ivaldo Itabaiana Junior, Robert Wojcieszak, Franck Dumeignil, et al.. L'avènement des matériaux multi-catalytiques hybrides, vers une combinaison optimale des catalyseurs. L'Actualité Chimique, 2020, 454, pp.27-36. hal-03038590

HAL Id: hal-03038590

<https://hal.univ-lille.fr/hal-03038590>

Submitted on 7 May 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Dossier : La catalyse hybride, une synergie puissante entre catalyses chimique et biologique

Hybrid catalysis, a powerful synergy between chemo- and bio-catalysis

Partie 4/4 : L'avènement des matériaux multi-catalytiques hybrides, vers une combinaison optimale des catalyseurs

Part 4/4 : The advent of hybrid multi-catalyst materials, towards an optimal combination of catalysts

Dr. Egon Heuson,^{1,*} Pr. Rénato Froidevaux,¹ Pr. Ivaldo Itabaiana Jr,^{2,3} Dr. Robert Wojcieszak,² Dr. Mickaël Capron,² Pr. Franck Dumeignil^{2,*}

¹ 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

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

³ Departamento de Engenharia Bioquímica - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ 21941-909, Brazil

Mots clefs : Catalyse Hybride, Matériaux Multi-Catalytiques Hybrides, Supports, Zéolithes, Metal-Organic Frameworks

Keywords: Hybrid Catalysis, Hybrid Multi-Catalytic Materials, Carriers, Zeolites, Metal-Organic Frameworks

Résumé

* Auteurs de correspondance ; E-mail : egon.heuson@univ-lille.fr, franck.dumeignil@univ-lille.fr

Dans la recherche de couplages optimaux de catalyseurs, les chercheurs pionniers en catalyse hybride se sont tout naturellement tournés vers l'élaboration de matériaux multi-catalytiques hybrides (MMCHs) constitués à partir de co-immobilisation sur un même support de catalyseurs chimiques et biologiques. Cette exécution disciplinaire innovante située au carrefour de la chimie, de la biologie et des sciences des matériaux fait appel à de très nombreuses compétences, et sa complexité n'a d'égale que la diversité des propriétés catalytiques que peuvent offrir ces MMCHs. En particulier, l'utilisation d'une large variété de supports organiques et inorganiques, rigides et flexibles, a d'ores-et-déjà permis l'élaboration de quelques déclinaisons remarquables de catalyseurs hybrides démontrant de véritables effets de synergie, avec des rendements et des excès énantiomériques finaux inatteignables lors de l'utilisation des catalyseurs de manière isolée, et ce même dans des procédés en 1P1S. Véritable fer de lance de la catalyse hybride, les MMCHs concentrent l'essence même de ce domaine, nécessitant communication et collaboration extrêmement étroites entre chimistes, biologistes, chercheurs en science des matériaux, ou encore en modélisation. Son développement sera sans aucun doute dans un futur proche le témoin d'une véritable (r)évolution de la recherche en catalyse vers des thématiques inter-, voire trans-, disciplinaires.

Abstract

In the search for optimal coupling of catalysts, it is quite naturally that pioneering researchers in hybrid catalysis have turned toward the development of multi-catalytic hybrid materials (MMCHs) constituted from the co-immobilization on the same support of chemical and biological catalysts. Such an innovative disciplinary variant, located at the crossroads of chemistry, biology and materials sciences, calls for a wide range of skills and its complexity is only equaled by the diversity of catalytic properties that MMCHs can offer. In particular, the use of a wide variety of organic and inorganic supports, rigid or flexible, has already led

to the development of some remarkable examples of hybrid catalysts exhibiting real synergy effects, with yields and final enantiomeric excesses that are unattainable when using each catalyst separately, even in 1P1S processes. As the spearhead of hybrid catalysis, MMCHs concentrate the very essence of this field, requiring seamless communication and collaboration between chemists, biologists, materials science researchers and modeling specialists. Its development will in the near future undoubtedly witness a real (r)evolution of research in catalysis towards inter-, or even trans-, disciplinary themes.

Comme décrit dans les précédents articles de ce dossier, la réalisation de réactions multi-catalytiques induit un certain nombre d'avantages liés à la combinaison de catalyseurs de natures différentes, et ce dans des domaines d'applications très diversifiés. Les procédés mettant en jeu ces réactions s'articulent autour de 3 exécutions principales qui diffèrent selon la façon et l'ordre dans lequel sont combinés les catalyseurs (2P1S, 1P2S et 1P1S). Le cas idéal reste bien évidemment celui des procédés 1P1S permettant de maximiser les échanges entre les catalyseurs et de considérablement simplifier la mise en œuvre des réactions. Sont ainsi évitées des étapes intermédiaires de purification/addition, et ainsi l'utilisation de composants coûteux comme les membranes, amenant à une économie importante en atome ainsi qu'en énergie. Cependant, les procédés en 1P1S qui sont le plus souvent décrits font intervenir des catalyseurs distincts. Si cette approche offre une certaine flexibilité au système avec la possibilité de notamment moduler facilement les quantités relatives des catalyseurs, elle peut être améliorée pour présenter des perspectives d'industrialisation encore plus intéressantes. L'industrie chimique recherche en effet en priorité à minimiser la complexité des procédés qu'elle met en œuvre, et, à ce titre, elle préférera souvent manipuler des catalyseurs uniques. Ainsi, la combinaison de différents catalyseurs en une seule et même « *entité catalytique* » (souvent sur un matériau support) apparaît comme désirable en vue d'une transposition plus fluide de la catalyse hybride vers l'échelle industrielle. En outre, ces nouveaux catalyseurs, que l'on peut qualifier de « *matériaux multi-catalytiques hybrides* » (MMCHs) offrent des efficacités supérieures à celles des catalyseurs isolés, selon différents phénomènes que nous détaillerons à travers les exemples présentés dans cet article clôturant le dossier.

Matériaux multi-catalytiques hybrides

La description du premier MMCH remonte à 2010, ce qui fait de cette variante disciplinaire l'une des plus jeunes du monde de la catalyse. Bien évidemment, nous ne parlons

ici que des matériaux multi-catalytiques hybrides et non ceux associant exclusivement plusieurs catalyseurs chimiques ou plusieurs catalyseurs biologiques, lesquels sont développés depuis plusieurs décennies. Cet avènement tardif peut s'expliquer par deux raisons principales : Premièrement, le besoin de création de ce type d'entité catalytique ne s'est fait sentir qu'une fois que la catalyse hybride a commencé à se développer et démontrer ses avantages. Or, comme nous l'avons vu, cette discipline remonte au tout début des années 2000 et n'a vu sa croissance prendre son essor que durant les années 2010. Deuxièmement, de manière encore plus prononcée que pour la catalyse hybride faisant appel à des couplages de catalyseurs distincts, la réalisation de MMCHs fait appel à un panel de connaissances et de compétences particulièrement diversifié. Il est bien entendu nécessaire de bien connaître et comprendre les systèmes catalytiques chimiques et biologiques combinés, en particulier leurs sensibilités et tolérances, la proximité créée entre ces derniers accroissant la probabilité de phénomènes d'empoisonnement et d'inhibition croisés. Mais plus encore, il est ici essentiel de bien connaître le matériau choisi pour la co-immobilisation, et plus particulièrement les interactions que ce dernier possède avec les systèmes catalytiques mis en jeu, ce qui multiplie encore le nombre de contraintes préalables à la réalisation de MMCHs efficaces. Or, peu d'équipes de recherche rassemblent et surtout font interagir ces différentes disciplines, l'interdisciplinarité demeurant toujours, quoi qu'on en dise et quels que soient les efforts consentis, un concept considéré comme admirable mais peinant en réalité à trouver sa place dans une recherche ultraspécialisée de manière systémique. Nous aurons l'occasion de revenir sur ce point à la fin de cet article.

Cela dit, porté par la lancée de la catalyse hybride, le nombre de MMCHs a rapidement augmenté durant la dernière décennie, et l'on dénombrait en Décembre 2019 une vingtaine d'exemples de ce type des matériaux. Avant de décrire plus en avant ces exemples, leurs caractéristiques, ainsi que leurs avantages et leurs limitations, précisons que nous nous

concentrerons ici sur les matériaux multi-catalytiques hybrides combinant un catalyseur chimique, quelle que soit sa nature, avec une enzyme. Les MMCHs utilisant des cellules entières appartenant plutôt à la famille des procédés en 2P1S comme nous l'avons précisé précédemment, nous ne les traiterons volontairement pas dans le cadre de cet article. Cependant, ils constituent des entités catalytiques tout aussi efficaces et importantes pour des développements industriels futurs, bien que leur nombre demeure encore très restreint. Précisons aussi que lorsqu'il s'agit de MMCHs à base d'enzymes, plus de la moitié des exemples décrits font intervenir des lipases. Cette prédominance peut être expliquée par les propriétés spécifiques des lipases décrites dans la partie 3 (« **50 nuances de catalyse hybride** ; Section : **Résolution cinétique dynamique et variantes** ») de ce dossier, à savoir leur tolérance aux solvants et à la température, leur importante stabilité, et surtout leur facilité d'immobilisation sur support solide, qui sont autant d'atouts pour leur utilisation afin d'élaborer des MMCHs. Nous avons d'ailleurs déjà exemplifié ce type de réalisation dans la précédente partie avec les travaux de Itabaiana *et coll.* consistant en l'immobilisation de nanoparticules de platine et de la lipase B de *Candida antarctica* (CalB) sur billes de silice pour la résolution cinétique d'amines.[1] Aussi, nous tenterons de présenter dans cet article un maximum d'exemples faisant appel à d'autres classes enzymatiques afin d'illustrer au mieux la diversité que peuvent proposer les MMCHs. Ajoutons enfin que la quasi-totalité des exemples de MMCHs reportés jusqu'alors utilise des centres métalliques (mono-atomiques ou nanoparticules) comme catalyseurs chimiques. Nous considérerons ici uniquement ce type de catalyseur pour la description des MMCHs.

Combinaison de catalyseurs en absence de support

Enveloppes protéiques, ou 'Protein Shells'

Lorsqu'il s'agit de combiner des enzymes avec des catalyseurs métalliques, on peut s'appuyer sur plusieurs stratégies très différentes, à commencer par la co-immobilisation des

catalyseurs en absence de support qui semble, à première vue, la plus simple à mettre en œuvre. Les enzymes étant des polymères protéiques naturels, il est en effet possible de les utiliser directement comme supports pour l'immobilisation de particules métalliques, au même titre que d'autres supports de type polymérique. En effet, la grande variété de résidus que les enzymes proposent offre de nombreuses possibilités d'interaction avec les métaux. En outre, on retrouve également ce type d'interactions au niveau naturel dans des enzymes possédant une fonction d'immobilisation des métaux, avec, par exemple, la présence de groupements porphyriques. En effet, exploités au niveau biologique par les « *métalloenzymes* », ces groupements offrent une bonne source d'inspiration ainsi qu'une variété de possibilités accrue pour les chercheurs pour l'incorporation de centres métalliques au sein d'enzymes. Précisons tout de même que la différence principale entre les métalloenzymes et les MMCHs réside dans le fait que les premières ont besoin du métal pour effectuer leur activité catalytique, tandis que les seconds tirent bien partie du couplage de plusieurs activités, chacune étant liée à la présence d'un centre catalytique différent, chimique ou biologique donc. Ajoutons aussi que la facilité de production des enzymes, ainsi que leur origine biosourcée, en font d'excellents candidats pour une industrie désireuse de relever les défis environnementaux à venir.

Aussi, quand il s'agit d'immobiliser des métaux au sein d'enzymes, deux possibilités s'offrent au chercheur ;

- soit le métal est incorporé au sein d'une seule protéine (« *Protein Shell* » ou PS),
- soit il est intégré à un maillage de plusieurs enzymes, autrement appelé « *Cross-Linked Enzymes Aggregates* » ou CLEAs.

Les deux stratégies n'offrent pas les mêmes possibilités d'immobilisation et donc des propriétés catalytiques différentes. Dans le cas des PSs, les particules métalliques doivent être de taille particulièrement faible, quelques nanomètres tout au plus, en regard de la taille de

leur hôte protéique, là où dans le cas des CLEAs, les centres métalliques sont souvent disposés aléatoirement au sein du polymère ou à sa surface, rendant le contrôle de la taille des particules moins important (sauf, si bien sûr, l'activité catalytique recherchée pour les particules ainsi dispersées dépend de leur taille). De manière intéressante, les *Protein Shells* sont utilisées depuis longtemps pour la synthèse de nanoparticules métalliques de taille contrôlée selon une technique qualifiée de « *biominéralisation* ».[2,3] Cette stratégie a été récemment appliquée pour la réalisation d'un premier exemple de MMCH de ce type basé sur la synthèse de nanoparticules de platine au sein de l'aminopeptidase de *Streptococcus pneumonia* (PepA).[4] Cette aminopeptidase à zinc s'auto-assemble en un complexe dodécamérique tétraédrique bien défini, de diamètres externe et interne respectivement d'environ 12 nm et 6 nm (Fig. 1), qui laisse une place suffisante pour la croissance des nanoparticules. Ajoutons que la structure de la PepA présente des canaux de respectivement 1 et 3 nm au centre des faces tétraédriques et sur les arêtes, permettant l'entrée des précurseurs requis pour la synthèse des nanoparticules de platine, mais aussi pour l'entrée et la sortie des substrats et produits des réactions catalytiques. Grâce à cette enzyme, les auteurs ont ainsi pu contrôler la synthèse de leurs nanoparticules de manière à obtenir des tailles très faibles comprises entre 0,9 et 3,2 nm. Cet exemple montre déjà l'importance d'une connaissance très approfondie de la structure de l'enzyme utilisée pour la réalisation des MMCHs, impliquant par exemple que celle-ci ait déjà été cristallisée et sa structure déterminée.

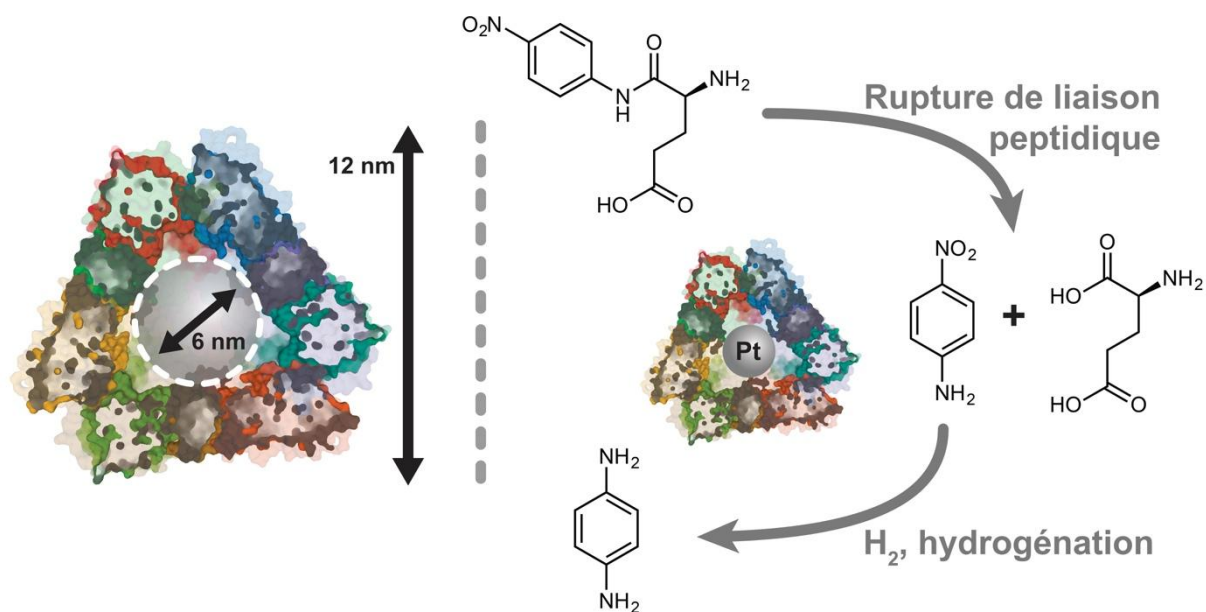


Fig. 1 : La cavité de 6 nm du dodécamère tétraédrique de peptidase A (à gauche) permet la croissance contrôlée de nanoparticules de platine avec une taille de 0,9 à 3,2 nm suivant le temps d'incubation de l'enveloppe protéique en présence de précurseur de Pt^{II} sous la forme de K_2PtCl_4 . L'activité de l'enzyme de ce MMCH consiste en l'hydrolyse de liaisons peptidique, illustrée ici par la déprotection de l'acide *p*-nitroanilideglutamique à 37 °C, en présence d'un tampon *Tris*-HCl (pH 7,5) et de ZnCl_2 . Les nanoparticules de platines réalisent en parallèle l'hydrogénation de fonctions chimiques en présence d'une source d' H_2 , ici du NaBH_4 , comme la fonction nitro du *p*-nitroanilide généré pour donner la *p*-phénylènediamine (à droite) (Figure adaptée d'après San *et coll.* [4]).

A l'issue de la synthèse les auteurs ont pu confirmer que les nanoparticules étaient bien et bien situées à l'intérieur des cavités, et non à la surface des enzymes. Ils ont de plus pu observer de manière intéressante que les enzymes ainsi modifiées possédaient une quantité en ions zinc inférieure à leur niveau naturel, indiquant que des ions platine viennent également partiellement substituer ces derniers au sein du site actif. Le MMCH ainsi constitué a montré une double activité catalytique résultant de la combinaison de celle attribuée à l'enzyme et de celle attribuée aux nanoparticules. Ce MMCH a été utilisé pour la déprotection de l'acide *p*-nitroanilideglutamique, suivie par la réduction du *p*-nitroanilide généré en *p*-phénylènediamine. Les auteurs ont ainsi pu étudier l'activité respective des deux catalyseurs

au sein de leur nouveau MMCH. Ils ont ainsi observé que l'activité de l'enzyme et des nanoparticules augmentait avec la diminution de la taille de ces dernières, **après mesure indépendante de celles-ci**. L'activité catalytique accrue des nanoparticules de platine avec la diminution de leur taille résulte de l'exposition plus importante de surface active (plus de Pt en surface). Dans le cas de l'enzyme, les auteurs n'ont pas précisé la raison expliquant cette augmentation, mais il est logique d'imaginer que la diminution de la taille des nanoparticules permet de moins interférer avec les sites actifs de l'enzyme, eux-aussi présents au sein de la cavité. De manière très intéressante, les auteurs ont aussi pu observer le fait que l'enzyme présentait un fort pouvoir stabilisateur pour les nanoparticules, étendant leur durée de vie par rapport à celle obtenue avec deux agents chimiques classiques (citrate et Tween80). Ceci met en exergue un premier effet de synergie qui peut apparaître au sein des MMCHs, à savoir la stabilisation de l'un des centres catalytiques par le second, là où de manière isolée, cet effet ne serait pas apparu. En outre, ce MMCH présente également des activités différentes selon le solvant organique utilisé, ce qui implique que la diversité des conditions catalytiques peut contribuer à élargir le champ des applications de ce dernier, et montre l'importance de la combinaison des catalyseurs au sein d'un même matériau.

Hybrides « Protein Shell » - polymère organique

S'il est possible d'utiliser l'enveloppe protéique pour créer des nanoparticules métalliques en leur sein comme nous venons de le voir, cette approche ne s'applique malheureusement qu'à des enzymes de tailles suffisamment conséquentes et possédant au moins un type de cavité dans laquelle les nanoparticules peuvent croître, ce qui demeure assez rare. Comme dans l'exemple présenté dans la partie sur les enveloppes protéiques, une solution consiste à utiliser des enzymes qui s'assemblent naturellement sous la forme de multi-mères présentant une géométrie donnée résultant en la création de la cavité requise. Là encore, seul un petit nombre d'enzymes est toutefois concerné. Afin de contourner ce

problème, il est alors possible de compléter la structure de l'enzyme avec un polymère organique afin de créer la cavité nécessaire. Cette stratégie a été employée par certains auteurs pour réaliser un MMCH à base d'une lipase, au sein duquel ils ont pu faire croître une nanoparticule de palladium de très faible diamètre de manière bien contrôlée.[5]

Immobilisation en surface et « Cross-Linked Enzyme Aggregates » (CLEAs)

Une alternative plus répandue consiste plutôt à faire croître les nanoparticules à la surface des enzymes, en profitant des aspérités de leur structure tridimensionnelle pour orienter la synthèse. Bien sûr, cette approche ne permet pas d'effectuer une structuration aussi précise qu'avec les PSs, et l'on se retrouve plutôt avec des MMCHs dans lesquels les deux catalyseurs sont juxtaposés. La taille des nanoparticules peut être ainsi plus difficile à contrôler avec des tailles plus élevées comme le montre un exemple décrit par Filice *et coll.*[6] Dans cette étude, les auteurs ont utilisé la lipase CalB comme support pour la synthèse de nanoparticules de palladium par simple ajout de celle-ci dans une solution de précurseurs de nanoparticules de palladium en présence de différents solvants organiques. Une fois le bon précurseur sélectionné, ici le $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ utilisé en présence de différents co-solvants, les auteurs ont observé la précipitation des enzymes et la formation de nanoparticules de Pd à leur surface. Une distribution bimodale de tailles de particules a alors été observée, les plus petites possédant en moyenne une taille comprise entre 1.3 et 3.5 nm suivant les conditions de synthèse, et entre 4.5 et 6.8 nm pour les plus larges. Les auteurs ont également testé des précurseurs de différents autres métaux et ont obtenu des nanoparticules d'argent et d'or de dimensions plus importantes (autour de la dizaine de nanomètres), mais présentant une distribution de tailles de particules monomodale contrairement au cas du palladium. Notons que l'influence des solvants organiques a été indiquée par les auteurs comme prédominante dans la formation des nanoparticules et le contrôle de leur dimension. On comprend donc ici pourquoi les lipases sont autant utilisées pour ce genre d'applications,

les autres enzymes étant bien souvent totalement dénaturées dans de telles conditions. C'est d'ailleurs peut-être justement leur flexibilité de structure qui, selon le solvant, permet de créer des aspérités d'amplitudes plus ou moins importantes à leur surface, influençant le dimensionnement des particules. Fait intéressant, les auteurs ont remarqué que dans ces conditions de synthèse, les enzymes s'aggloméraient pour former un macro-polymère au sein duquel les nanoparticules étaient emprisonnées. La formation de ce réseau organique a ainsi permis d'obtenir un MMCH particulièrement stable en solution aqueuse, ne présentant aucune modification de la taille et de la morphologie des particules sur trois mois, ce qui prouve que le réseau d'enzymes n'agit pas seulement comme support physique et agent réducteur pendant la synthèse des nanoparticules, mais qu'il sert aussi, encore une fois, d'agent stabilisateur. Malgré cette agglomération, les auteurs ont pu récupérer jusqu'à 50 % de l'activité enzymatique des lipases, et ils ont pu utiliser avec succès leur nouveau MMCH pour la synthèse d'un nitroarène à partir d'un nitrophénol acétylé, ainsi que pour des réactions de couplage de Suzuki-Miyaura et de Heck.

Toujours sur le même modèle pour la synthèse de MMCHs, précisons qu'il est possible de forcer davantage la réticulation des enzymes afin d'augmenter la stabilité du macro-polymère organique. Ceci passe par la formation de CLEAs comme nous l'avons précédemment mentionné. Ceux-ci sont générés par couplage chimique des enzymes entre elles, très souvent par utilisation de ligands organiques comme le glutaraldéhyde venant se lier à des résidus spécifiques de l'enzyme. Ils sont très faciles à mettre œuvre mais présentent des inconvénients majeurs à commencer par un contrôle difficile du degré de polymérisation, ainsi qu'une perte partielle de l'activité catalytique des enzymes comme dans le cas de leur agrégation. Il n'est en effet pas rare qu'au sein du maillage les liaisons entre les enzymes s'effectuent sur des résidus protéiques trop proches du site actif, ou impliqués dans le repliement de la protéine, entraînant une incapacité à établir le complexe enzyme-substrat. À

ceci peuvent venir s'ajouter des problèmes de diffusion des substrats et produits au niveau des enzymes situées au centre du maillage. Cependant, leur grande stabilité et leur facilité de synthèse en font l'une des méthodes d'immobilisation des enzymes les plus répandues, et les CLEAs ont à ce titre déjà été utilisés pour la synthèse de MMCHs comme décrit par les travaux de Bäckvall et son équipe.[7,8] Enfin, il est même possible d'utiliser directement les métaux eux-mêmes pour réaliser les CLEAs. Li *et coll.* ont par exemple utilisé du cuivre pour lier des lipases entre-elles en profitant de la capacité des liaisons peptidiques à chélater le métal par l'intermédiaire de leur atome d'azote.[9] L'intérêt de ce type de méthode est qu'elle peut potentiellement s'appliquer à tout type de protéine. Les auteurs ont obtenu un maillage moléculaire hautement poreux au sein duquel sont réparties les enzymes. Cependant, les auteurs ne se sont pas arrêtés à la formation du CLEA : Ils ont utilisé une approche « *bottom-up – top-down* » consistant à former le CLEA dans un premier temps, puis à le fragmenter en MMCHs unitaires composés de nanoparticules de cuivre actives sur lesquelles sont alors greffées les enzymes (Fig. 2). En effet, lors de la formation du CLEA, les atomes de cuivre sont sous forme di-cationique (Cu^{2+}) et il convient de les réduire en cuivre métallique (Cu) afin de leur conférer leur activité catalytique. Cette fragmentation a été rendue possible par l'ajout de pyrrolidol de polyvinyle, un surfactant, qui empêche l'agrégation des nanoparticules métalliques lors de la réduction et aide à former des MMCHs isolés de taille inférieure. On obtient alors dans ce cas non pas des nanoparticules fixées à la surface des enzymes, mais l'inverse. Les auteurs ont alors pu mettre en évidence la présence de la double activité catalytique en appliquant leur nouveau MMCH à la conversion de *p*-nitrophényl butyrate en *p*-aminophénol à travers une étape d'hydrolyse suivie d'une étape de réduction, réaction modèle utilisée par tous les exemples de travaux précédemment évoqués mettant en jeu une lipase. On peut cependant espérer que ce type de MMCH trouve rapidement des applications concrètes dans le cadre d'une réaction industrielle afin de valoriser ces avancées.

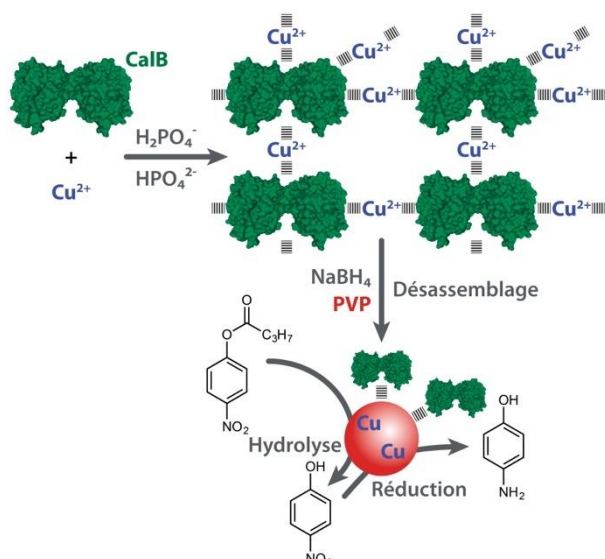


Fig. 2 : Approche « *bottom-up/top-down* » par assemblage/désassemblage pour la création d'un MMCH à base de cuivre métallique, de la CalB et de pyrrolidol de polyvinyle. La synthèse du réseau CalB-Cu²⁺ est réalisée en présence d'ions phosphate, et le désassemblage est réalisé par réduction du Cu²⁺ à l'aide de NaBH₄. Le MMCH peut être utilisé pour coupler une réaction d'hydrolyse d'esters avec une réduction

(Figure adaptée d'après Li *et coll.*, [9]).

Utilisation de supports inorganiques

Dès lors, si l'utilisation des enzymes comme matrice pour l'immobilisation de catalyseurs chimiques a prouvé son efficacité à travers les quelques exemples présentés plus haut, elle demeure largement minoritaire dans la construction de MMCHs. Les supports de type inorganique sont en effet beaucoup plus représentés, à commencer par ceux s'appuyant sur des matériaux rigides pour la co-immobilisation des catalyseurs. Ce sont eux qui représentent la très grande majorité des exemples publiés dans la littérature.

Supports à structure rigide

Si ces supports sont à ce point représentés, c'est sûrement parce qu'ils ont déjà été très largement employés pour l'immobilisation d'enzymes et de métaux de manière séparée. Les chercheurs se sont donc tout logiquement tournés vers eux en premier lieu pour tenter la co-immobilisation de ceux-ci. Ainsi, de nombreux supports « *solides* » ont déjà pu être testés

pour la co-immobilisation de catalyseurs chimiques et biologiques.[10–12] Historiquement, ce sont les zéolithes qui ont été utilisées les premières pour l'élaboration de MMCHs.

Les zéolithes sont des matériaux inorganiques cristallins dont le squelette microporeux est composé d'aluminosilicates, et dont les espaces vides sont comblés par des molécules d'eau ou des espèces cationiques. Leur structure poreuse en fait d'excellents matériaux pour de nombreuses applications, que ce soit sous la forme de déshydratants pour la purification de divers gaz, mais aussi pour la synthèse de catalyseurs hétérogènes pour diverses réactions au niveau industriel (époxydations, isomérisations, etc.).

Bien connues des chimistes inorganiciens en particulier pour leurs propriétés catalytiques, ces dernières ont été utilisées à plusieurs reprises pour ce type de réalisation. [13,14] Le premier exemple de MMCH ainsi reporté en 2010 fait intervenir le couplage d'une glucose oxydase avec une zéolithe de type « *titanium silicate-1* » (TS-1).[15] L'utilisation de zéolithes à base de titane est maintenant très largement reconnue pour la mise en œuvre de réactions d'oxydation de fonctions oxygénées (alcools, époxydes, etc.). L'utilisation de TS-1 comme support pour les enzymes permet donc dans le même temps d'ajouter ce type d'activité catalytique au matériau final. Dans le cadre de leur étude, les auteurs ont commencé par utiliser la glucose oxydase et la zéolithe TS-1 selon un procédé en 1P1S, mais avec les deux catalyseurs séparés en solution. Bien que le couplage se soit montré relativement fonctionnel pour la création d'époxydes, les auteurs ont remarqué que l'enzyme souffrait manifestement du fait que l' H_2O_2 produit demeure à son contact dans le milieu avant d'être réduit par le catalyseur métallique, entraînant sa dénaturation au cours du temps. Afin de limiter ce problème, les auteurs ont alors cherché à réduire le trajet diffusionnel de l' H_2O_2 entre l'enzyme et le métal. Ils ont pour cela immobilisé l'enzyme à la surface du matériau. Ce faisant, ils ont pu réaliser avec leur nouveau MMCH l'oxydation de différents alcools à

courtes chaînes comme le 2-butanol et le 2-propanol, alors que cette dernière était impossible avec l'enzyme libre. Ceci montre un nouvel effet de synergie pouvant apparaître lors de la co-immobilisation de deux catalyseurs, permettant d'accéder à une diversité de réactions plus importante qu'avec les catalyseurs employés en tandem mais de manière isolée. Notons que la stratégie consistant à immobiliser l'enzyme à la surface du matériau est celle qui a le plus largement été sélectionnée lors de l'élaboration de MMCHs, notamment de par sa facilité de réalisation vis-à-vis d'autres techniques plus complexes. Cependant, comme précisé par les auteurs, cette stratégie ne permet de limiter que partiellement les phénomènes d'inhibition par le substrat, l'enzyme restant tout de même au contact du milieu réactionnel, et les concentrations en produits obtenues sont restées très anecdotiques même dans le cas de l'utilisation du MMCH. Une nouvelle approche innovante a depuis été développée par Smeets *et coll.*[16] Les auteurs ont en effet choisi d'immobiliser la glucose oxydase cette fois par encapsulation au sein de micelles inorganiques de zéolithe TS-1 plutôt que par création de liaisons covalentes à la surface de cette dernière. Cette approche s'appuie sur la formation de sphères mésoporeuses par utilisation d'un atomiseur permettant de faire passer la solution de précurseur de la zéolithe sous la forme d'un aérosol. Une fois celle-ci pulvérisée, les microsphères se forment naturellement et se solidifient par séchage. L'enzyme peut alors être introduite par simple imprégnation, puis est réticulée pour former un CLEA au sein de la micelle, empêchant sa rediffusion vers l'extérieur (Fig. 3).

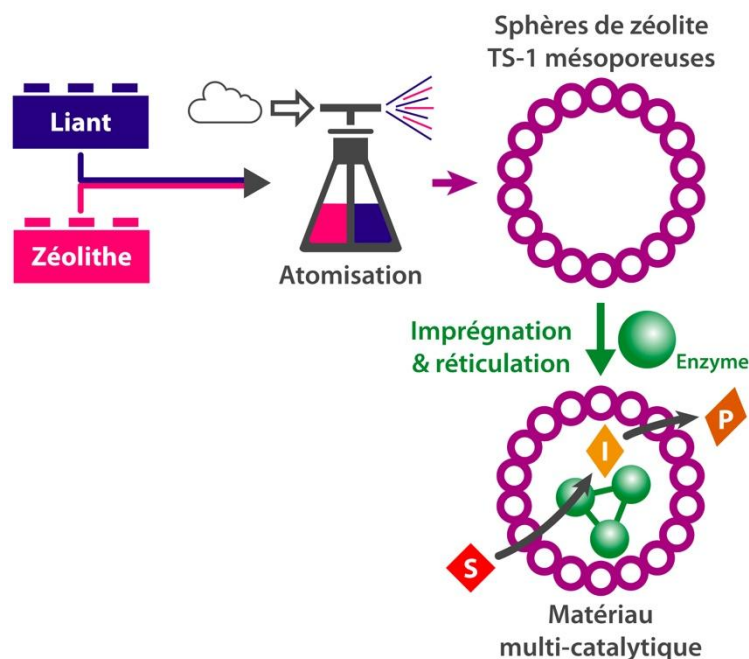


Fig. 3 : Synthèse de MMCHs basés sur la création de sphères de zéolithe TS-1 mésoporeuses par atomisation sous 4 bar à 80 °C d'un mélange d'une solution de TS-1 colloïdale et d'une solution de précurseur de silice ($\text{SiO}_2/\text{TPAOH}/\text{F127}/\text{H}_2\text{O}$:1/0,15/0,005/20). Le matériau final est obtenu après un traitement supplémentaire à 70 °C pendant 16 h suivi d'une calcination à 550 °C pendant 5 h. L'enzyme est ensuite incorporée aux sphères par imprégnation sous agitation à température ambiante, puis le CLEA est formé par addition de glutaraldéhyde (Figure adaptée d'après Smeets *et coll.* [16]).

L'avantage direct de ce type de réalisation réside dans l'absence de contact entre l'enzyme et le reste du milieu réactionnel, cette dernière se trouvant alors protégée par sa bague zéolithique. L'enzyme se trouve aussi de cette manière en contact très proche avec les centres catalytiques métalliques, diminuant grandement le trajet de diffusion de l' H_2O_2 . Les auteurs ont ainsi pu réaliser une réaction d'époxydation de l'alcool allylique vers le glycidol avec de bien meilleurs rendements que ceux obtenus dans la précédente étude (0,04 %), avec un peu plus de 30 % de conversion ici en fin de réaction au bout de 25 h. Précisons cependant que, dans ce cas, le rendement obtenu avec le MMCH n'était pas de beaucoup supérieur à celui obtenu avec les deux catalyseurs sous forme libre, mais que la sélectivité en glycidol a tout de même été accrue (76 % contre 67 % avec les catalyseurs séparés). Cette limitation

peut d'ailleurs être imputée selon les auteurs à la formation du CLEA qui, comme nous l'avons évoqué précédemment, est une source de dénaturation importante pour les enzymes, ces dernières n'ayant retenu que 50% de leur activité spécifique dans le cas présent. Ces travaux s'avèrent tout de même prometteurs quant à l'utilisation de MMCHs pour la réalisation de réactions plus sélectives en contrôlant mieux la formation des produits. Il sera d'ailleurs essentiel d'essayer de quantifier les effets électroniques à l'origine des interactions apparaissant dans le cadre de ces MMCHs et régissant les nouvelles propriétés et sélectivités catalytiques si l'on veut pouvoir les exploiter au mieux en construisant des MMCHs de manière plus raisonnée.

Les zéolithes ne sont pas les seuls matériaux à avoir été utilisés comme support pour la création de MMCHs, et d'autres matériaux à base de silice ont pu être mis en œuvre. On pourra par exemple citer les particules de silice mésoporeuse. Le plus souvent, les enzymes ont été greffées en surface du matériau comme évoqué précédemment.[1] Cependant, contrairement aux zéolithes, dans ce cas, les espèces actives ne sont pas constitutives du support. Ceci représente un certain avantage vis-à-vis du spectre de métaux qu'il est possible d'utiliser, mais a aussi pour conséquence d'entraîner des problèmes de relargage dans le cas où les particules métalliques ne seraient pas fortement liées au matériau. Une possibilité pour contourner ce problème a été développée par Bäckvall et son équipe. Elle consiste en la co-immobilisation covalente des deux catalyseurs au cœur des pores du matériau.[17] Cette approche a permis d'élaborer un MMCH particulièrement efficace combinant une lipase et des nanoparticules de palladium, atteignant jusqu'à 99 % de conversion et un $ee > 99\%$ lors de la déracémisation de la 1-phényléthylamine. Cependant, cette approche ne permet pas de résoudre la seconde limitation que ce type de greffage sur un support inerte peut induire, à savoir le contrôle efficace du positionnement des enzymes vis-à-vis des centres métalliques afin de limiter leur contact dans le cas où l'enzyme serait inhibitrice pour le métal ou

inversement. Pour contourner cette limitation, les chercheurs tentent alors d'immobiliser les nanoparticules métalliques dans les pores du matériau, tout en gardant les enzymes cantonnées à sa surface. Afin d'atteindre cet objectif, il est possible de moduler l'hydrophobicité de la surface des billes de silice avec des groupements hydrophobes organiques afin de ne plus lier l'enzyme au support de manière covalente, mais plutôt par interactions hydrophobes.[18]

Une autre stratégie a été développée et consiste en la localisation du centre métallique au cœur de la bille de silice, la construction de cette dernière étant réalisée autour de celui-ci.[19] En prenant soin de conserver la formation de pores de taille suffisante pour la diffusion des substrats et produits vers la nanoparticule métallique, les auteurs ont ainsi pu construire un MMCH efficace combinant une β -glucosidase avec une nanoparticule d'or, alors que ces dernières sont souvent inhibées par les résidus protéiques. D'autres supports inorganiques n'utilisant pas de silice ont aussi été testés pour leur capacité à co-immobiliser des catalyseurs chimiques et des enzymes. On pourra citer les « *nanoflowers* » comme support pour les MMCHs. Ces matériaux émergents semblent très prometteurs pour l'élaboration de MMCHs dans la mesure où ils sont de plus en plus utilisés pour l'immobilisation séparée d'enzymes ou de catalyseurs métalliques, même si un seul exemple de couplage dans le but de diagnostics médicaux et militaires a été reporté jusqu'à présent.[20]

Enfin il convient aussi d'évoquer l'utilisation de supports organiques carbonés pour ce type d'applications. On pourra tout d'abord noter l'utilisation de feuillets de graphène pour l'élaboration du premier MMCH trouvant une application directe dans le milieu médical. Les auteurs de ce travail ont ainsi profité des interactions π - π qu'offre le graphène pour y effectuer l'immobilisation d'une hème, ainsi que d'une glucose oxydase par liaison covalente.[21] Bénéficiant de ces interactions avec le support, l'hème peut réaliser l'oxydation de l'arginine en monoxyde d'azote (NO), alors que l'enzyme utilise du glucose pour la génération de

l' H_2O_2 nécessaire à cette oxydation. L'oxyde nitrique est en effet désormais reconnu comme étant une molécule anti-thrombotique, celle-ci étant déjà générée en continu par les cellules endothéliales qui tapissent les parois intérieures de tous les vaisseaux sanguins. La présence de glucose et d'arginine facilement disponible dans le sang rend alors ce MMCH particulièrement utile pour compléter cette génération biologique naturelle. Les auteurs ont même pu montrer que leur MMCH était intégrable à une matrice de polyuréthane, tout en maintenant ses propriétés catalytiques, ce qui facilite son intégration à des dispositifs médicaux. Cette étude montre combien l'utilisation de support organiques, et en particulier de feuillets carbonés possédant une biocompatibilité élevée, peut s'avérer utile pour la réalisation de MMCHs efficaces en vue de leur utilisation aux niveaux biologique et médical. Toujours dans la même famille, des feuillets de nitrure de carbone (C_3N_4) ont très récemment été utilisés pour la co-immobilisation de nanoparticules de palladium et de la lipase CalB.[22] En raison de la grande quantité d'atomes d'azote, une activité exceptionnelle peut être obtenue grâce à la proportion élevée d'atomes de métal faiblement coordonnés dans ces matériaux composites. Dans le même temps, le dosage des métaux nobles peut alors être réduit au minimum ce qui limite le coût économique et environnemental de ces catalyseurs. En effet, les feuillets 2D conjugués constitués d'unités répétitives de tris-s-triazine facilitent grandement la liaison de particules métalliques dans la matrice, tels que le Pd, Pt, Ag, Au, ou Cu, et les auteurs ont alors pu en bénéficier pour directement incorporer des nanoparticules au matériau. Concernant l'enzyme, plutôt que d'effectuer une liaison covalente, les auteurs ont choisi de profiter d'interactions faibles avec le matériau pour effectuer son immobilisation sous la forme de feuillets formés à l'aide de glutaraldéhyde de la même manière que pour la réalisation de CLEAs. Les auteurs ont alors pu observer de manière intéressante que l'activité de l'enzyme était grandement augmentée pour leur réaction modèle (estérification de l'héxanoate d'éthyle avec l'alcool benzylique). Ce résultat suggère que les interfaces physiques

et chimiques du C_3N_4 peuvent avoir certains effets sur l'orientation et la conformation de la CalB immobilisée, contribuant à l'accroissement de l'activité. En outre, la CalB libre est connue pour s'agréger facilement dans un solvant organique, et la nature amphiphile du C_3N_4 permet alors une meilleure dispersion, ce qui facilite le contact entre les substrats et l'enzyme. Les nanoparticules de palladium ont elles aussi montré une activité appréciable en réduction du benzaldéhyde en alcool benzylique, et les auteurs ont ainsi pu utiliser avec succès leur MMCH pour la production d'héxanoate de benzyle à partir de benzaldéhyde. Cependant, ici encore des limitations importantes peuvent être observées au niveau de la protection des catalyseurs et de leur stabilisation dans le temps, conduisant à leur dénaturation sur plusieurs cycles catalytiques, en particulier au niveau de l'enzyme. Comme nous avons pu le voir à travers les différents exemples présentés dans cette partie, l'utilisation de matériaux à structure figée comme support pour les MMCHs ne permet que rarement de bien protéger les catalyseurs les uns des autres, ou du milieu réactionnel, notamment à cause de la nécessité de fixer ces derniers à leur surface. À cet inconvénient vient s'ajouter l'absence de sélectivité et de spécificité liée à ce type de structure dont nous avons discuté dans la partie 2 de ce dossier, facteurs essentiels pour la régulation des performances catalytiques.[23] Afin de contourner ces limitations, des travaux de recherche se sont orientés vers des matériaux plus flexibles, voire « *respirants* ».

Utilisation de supports flexibles

Une des propriétés les plus intéressantes des nanostructures flexibles consiste en le fait qu'elles offrent une bonne régulation de leur taille, forme, structure, fonctions chimiques, et ainsi de la dispersion des catalyseurs en leur sein. Véritables fers de lance de cette catégorie de matériaux, les « *metal-organic frameworks* » (MOFs), ou encore leurs homologues covalents les « *covalent organic frameworks* » (COFs) ont ainsi pu être utilisés avec succès pour concevoir de nouveaux MMCHs. Les MOFs, autrement connus sous le nom de « *porous*

coordination polymers » (PCP), sont synthétisés par auto-assemblage d'ions métalliques ou de « *polyoxo-clusters* » (métaux de transition du groupe 3d, métaux du groupe 3p ou lanthanides) avec des ligands organiques ditopiques ou polytopiques (carboxylates, groupes donneurs d'azote, sulfonate, ou phosphonate), sous la forme de cristaux hautement poreux (canaux) [24].

Les « *metal-organic frameworks* », ou MOFs, sont des matériaux découverts au début des années 2000 et dont le nom (ZIF-8, NU-100x, PCN-333, etc.) décrit souvent le laboratoire dans lequel ils ont été découverts. À titre d'exemple, le MIL-101, qui est certainement le MOF le plus utilisé en catalyse, a été découvert à l'Institut Lavoisier de l'Université de Versailles-Saint-Quentin-en-Yvelines, et a ainsi été nommé « *Material of Institut Lavoisier* » (MIL).

Leur principal avantage pour la catalyse hybride réside en leur capacité à former des structures avec des variations de tailles de pores, de formes et de fonctions presque illimitées. Notons que ces matériaux sont aussi mus par un phénomène que l'on qualifie de « *respirabilité* » des MOFs, qui traduit la présence d'une certaine flexibilité au sein de leur structure, répondant ainsi à un critère de performance pour la catalyse hybride. Cette particularité leur permet notamment de s'adapter structurellement pour l'incorporation d'éléments de dimensions différentes. Cette grande versatilité structurale est évidemment liée à la grande variété de métaux et de ligands qu'il est possible d'employer pour leur synthèse, mais aussi au fait qu'il est possible de les post-fonctionnaliser, tant au niveau des centres métalliques que des ligands [25], par remplacement de ces derniers après l'étape de synthèse. Plusieurs études décrivent d'ailleurs la possibilité de réaliser des MOFs multi-métalliques et multi-ligands, même si, en pratique, ces derniers sont assez difficiles à synthétiser [26]. C'est

cette versatilité tant en termes de structures que de méthodes de synthèse qui est particulièrement intéressante pour l'élaboration de matériaux multi-catalytiques (Fig. 4).

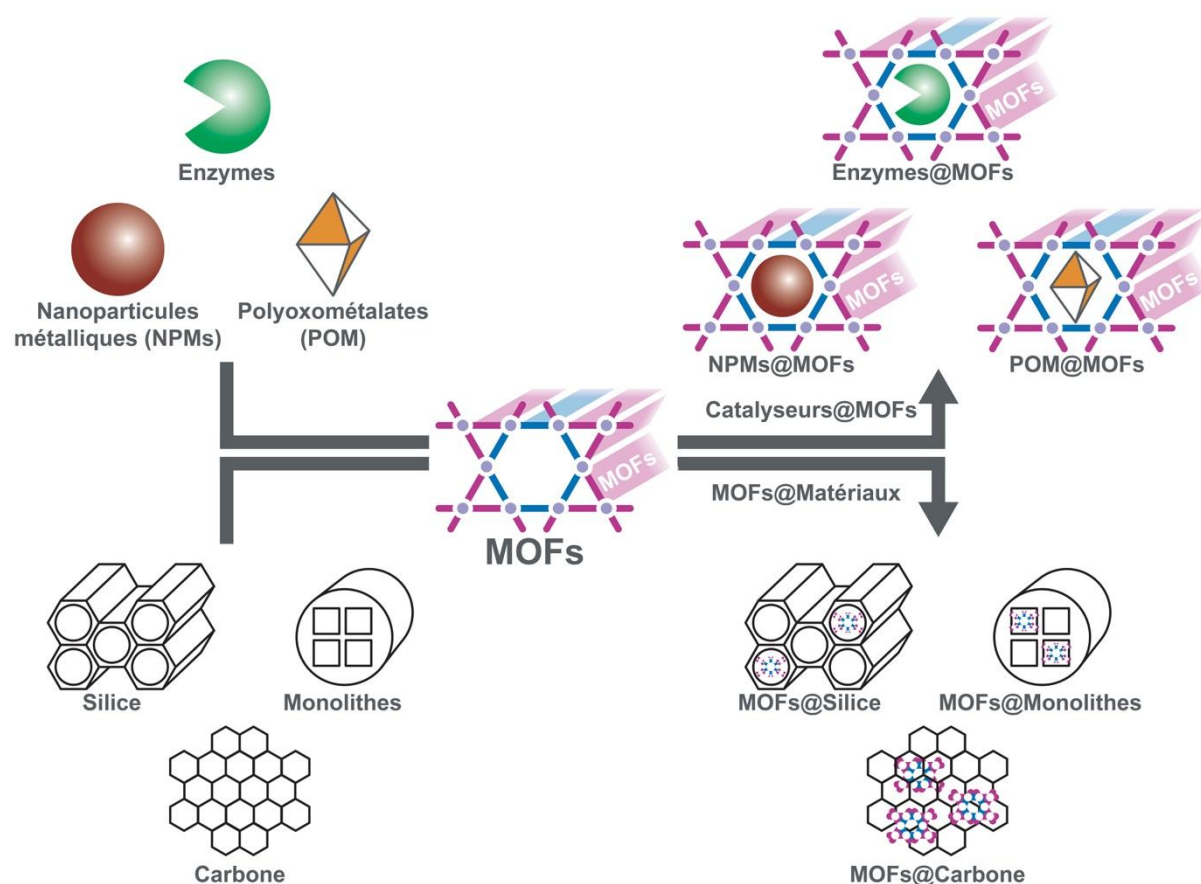


Fig. 4 : Possibilités de combinaison des « *metal organic frameworks* » (MOFs) avec des catalyseurs et des supports hétérogènes pour l'obtention de nouveaux matériaux catalytiques fonctionnels (Figure adaptée d'après Chen et Xu [27]).

Il a alors été possible en 2017 de voir apparaître un premier MMCH à base de MOFs. Celui-ci mettait en œuvre la combinaison d'une glucose oxydase avec des nanoparticules d'un alliage nickel-palladium (NiPd), assez rare en catalyse hybride, immobilisées dans un matériau de type ZIF-8.[28] Dans cet exemple, les nanoparticules n'étaient pas utilisées pour réaliser une étape supplémentaire de synthèse, mais plutôt pour leur activité de type « *peroxydase* » permettant de décomposer l' H_2O_2 produit par l'enzyme en H_2O . Fait très intéressant, les auteurs ont étudié la cinétique de la réaction catalysée par les nanoparticules immobilisées au sein du MOF et se sont aperçus que celle-ci suivait un comportement

mickaelien similaire à celui d'une peroxydase enzymatique. Ils ont donc mesuré les paramètres cinétiques (K_M et V_{max}) associés à cette activité et les ont comparés à la peroxydase de raifort (HRP).

Les enzymes ne suivent pas les modèles de cinétique classiques décrits en catalyse chimique. On considère que la grande majorité d'entre elles suit plutôt le modèle développé par Maud Menten, Leonor Michaelis et Victor Henri. Il prend la forme d'une équation décrivant la vitesse des réactions enzymatiques, en mettant en relation la vitesse de réaction v (variation de la concentration en produit P en fonction du temps t) à $[S]$, la concentration du substrat de l'enzyme S. Sa formule est donnée par : $v = d[P]/dt = V_{max} * [S] / (K_M + [S])$. Cette équation est appelée l'équation de Michaelis-Menten-Henri, ou plus simplement de Michaelis-Menten. Ici, V_{max} représente la vitesse maximale atteinte par le système, se produisant à une concentration en substrat saturante. La valeur de la constante de Michaelis, appelée K_M est numériquement égale à la concentration de substrat à laquelle la vitesse de réaction est la moitié de V_{max} . De ce fait, elle traduit directement l'affinité de l'enzyme pour son substrat, cette dernière étant d'autant plus importante que le K_M est faible.

En résultat, le K_M de leur nouveau matériau s'est avéré plus faible que celui de l'enzyme de référence, démontrant une affinité plus importante du nouveau matériau pour les substrats étudiés. Ceci met en exergue le fait que l'incorporation de catalyseurs, même chimiques, au sein de ce type de matériau flexible peut permettre d'obtenir des comportements catalytiques proches de ceux des enzymes avec des spécificités et sélectivités accrues. Ajoutons aussi que si l'incorporation des nanoparticules métalliques n'a pas conduit à des changements majeurs de morphologie du MOF, celle de l'enzyme a abouti à sa cristallisation sous une forme différente, montrant comment cette classe de matériau est en

mesure de s'adapter aux molécules qui y sont incorporées. Précisons tout de même que la phase cristalline est restée identique avec ou sans incorporation de catalyseur. Ceci peut probablement être expliqué par le fait que les ZIF-8 sont des MOFs présentant des tailles de pores de 11.6 Å qui ne peuvent donc à ce titre pas directement incorporer les enzymes et les nanoparticules. En revanche, le revêtement d'enzyme avec des ZIF-8 a déjà été montré comme pouvant par exemple protéger les biomacromolécules contre les dégradations biologique, thermique ou chimique tout en maintenant leur bioactivité.[29] C'est pourquoi les auteurs ont choisi de synthétiser leur MMCH par co-précipitation des catalyseurs avec le MOF. Cependant, cette approche limite le nombre de catalyseurs et de matériaux qu'il est possible d'utiliser, les premiers devant résister aux conditions de synthèse des seconds. Il est aussi difficile de cette façon d'organiser précisément la répartition des catalyseurs au sein du matériau, et l'utilisation de MOFs avec des tailles de pores plus importantes peut alors s'avérer plus intéressante comme nous le verrons ci-après. Le premier intérêt de ce nouveau MMCH est donc de pouvoir utiliser plus efficacement la glucose oxydase, qui est fortement inhibée en présence d' H_2O_2 , en limitant sa dénaturation au cours de la réaction par réduction de ce dernier par les nanoparticules de NiPd. Les auteurs ont d'ailleurs observé une augmentation de l'activité de l'enzyme en présence des nanoparticules par rapport à celle mesurée avec l'enzyme immobilisée seule au sein du MOF. Ils ont émis l'hypothèse que cette « *activité catalytique plus élevée peut être attribuée à la structure de nanoparticules creuses de NiPd dans le matériau, qui pourrait aider à capturer plus de molécules de glucose oxydase dans ZIF-8* », sans pour autant vérifier la quantité d'enzyme immobilisée dans les deux cas. Il est ainsi plutôt probable que cet accroissement de l'activité catalytique soit effectivement dû à une préservation de l'enzyme de l' H_2O_2 et par sa prise en charge rapide par les nanoparticules, entraînant l'effet de synergie décrit. Si la présence des nanoparticules n'était pas à l'origine destinée à effectuer une étape catalytique supplémentaire, les auteurs ont tout

de même réussi à réaliser une cascade catalytique faisant intervenir l'*o*-phenylènediamine comme substrat pour l'activité peroxydase du matériau. Ce système a permis de montrer l'utilité du matériau pour la détection colorimétrique de glucose en solution, application utile pour des analyses dans les milieux médicaux et agroalimentaires. Les auteurs ont aussi utilisé le concept pour étudier l'activité électrocatalytique de leur nouveau MMCH pour la réduction de l'oxygène, propriété très intéressante pour la fabrication de biosenseurs électrochimiques pour la détection du glucose.

Depuis ce premier exemple, plusieurs autres ont été décrits avec des MOFs comme supports, toujours en cherchant à améliorer les effets de synergie entre les catalyseurs. Cependant, dans la majorité des cas, les catalyseurs chimiques (nanoparticules métalliques) ont pu être incorporés au matériau alors que les enzymes ont été immobilisées en surface.[23,30] Ceci est de nouveau dû à l'utilisation d'un MOF, le UiO-66, présentant des tailles de pores relativement faibles (21 Å dans la dimension la plus élevée). Il convient cependant de citer une étude parue au début 2020 et présentant un exemple de MMCH à base de MOF proposant enfin l'incorporation des enzymes à l'intérieur des pores du matériau.[31] Pour cela, Dutta *et coll.* se sont appuyés sur l'utilisation de la polyvinylpyrrolidone (PVP), un polymère amphiphile non-ionique, pour la génération de mésopores (> 20 nm) pendant la cristallisation du MOF à base d'une structure d'imidazolates zéolitiques contenant du cobalt (ZIF-67). Le PVP a été ajouté et utilisé comme polymère volumineux pour participer à la coordination des métaux pendant la formation des cristaux du ZIF-67 et ainsi induire une perturbation partielle du processus de caténation du complexe l'imidazole-Co(II). Une mésoporosité élevée est ainsi générée, il s'agit plus vulgairement de « *trous* », dans la structure des cristaux en résultant. En ajoutant des nanocristaux de palladium déjà complexés avec du PVP lors de la synthèse du MOF, les auteurs ont ainsi pu les introduire facilement à la structure du matériau, ces derniers se retrouvant logiquement situés au niveau des

mésopores formés (Fig. 5). La même approche a été aussi testée avec des nanocristaux de platine, aboutissant là encore à l'incorporation réussie des centres métalliques au sein du MOF. Fait encore plus intéressant, les auteurs ont aussi remarqué à l'issue de la synthèse la présence de cations Co(II) présentant un défaut de coordination en groupements imidazole causé par l'utilisation du PVP lors de la construction du matériau. Ce qui est remarquable ici c'est que ces centres métalliques ont eux aussi une activité catalytique, différente de celle des nanoparticules de palladium. Enfin, pour ce qui est de l'enzyme, la taille suffisamment conséquente des mésopores du matériau ainsi formé a permis l'incorporation de la lipase A de *Candida antarctica* (CalA) au sein de ces derniers, ses dimensions étant de 4,2 x 5,6 x 6,3 nm.

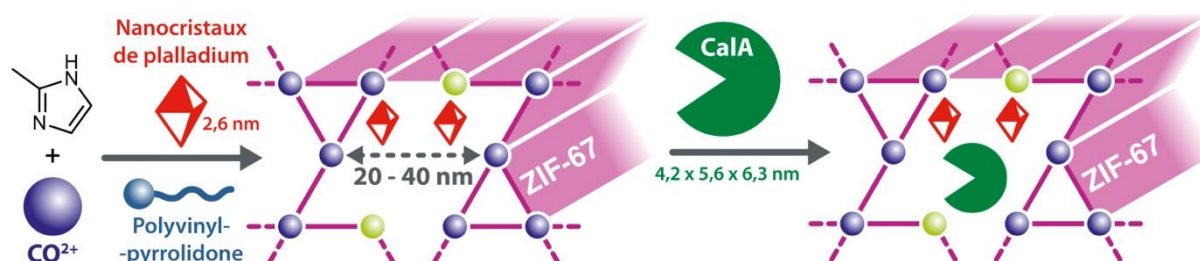


Fig. 5 : Synthèse d'un MMCH à base de MOF-67 présentant des mésopores permettant l'immobilisation de catalyseurs de taille relativement importante à l'intérieur de sa structure. La première étape consiste en la croissance du cristal en présence d'ions Co^{2+} , de 2-méthylimidazole et de polyvinylpyrrolidone (PVP, $\text{MW} = 10000 \text{ g.mol}^{-1}$). Les cations catalytiques Co^{2+} déficients en coordination créés par le PVP sont représentés en vert clair. Les nanocristaux de palladium sont introduits durant la croissance et sont immobilisés dans les mésopores formés. Dans une seconde étape, les enzymes (CalA) sont introduites dans les mésopores par simple incubation avec le matériau dans l'eau à température ambiante (figure adaptée d'après Dutta *et coll.* [31]).

Cette méthode a permis de conserver l'activité de l'enzyme, et les auteurs ont même pu observer un effet protecteur du matériau contre la dénaturation comme ils l'avaient escompté. Ce faisant, les auteurs ont réussi à créer le tout premier MMCH possédant trois activités catalytiques distinctes. Afin d'illustrer son potentiel en synthèse, celui-ci a été appliqué à la formation dans un premier temps de nitroalcools (réaction de Henry) catalysée

par les sites insaturés de Co(II), suivie de la racémisation de l'énantiomère formé non désiré catalysée par les nanocristaux de palladium, l'autre énantiomère étant alors acylé par la lipase (Fig. 6).

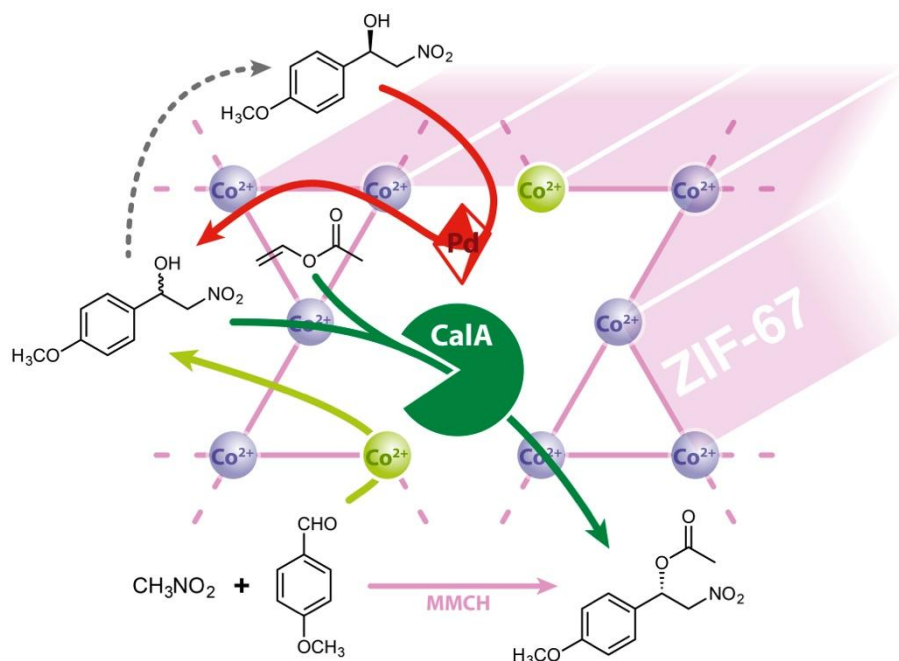


Fig. 6 : Synthèse d'acétate de (S)-1-(4-méthoxyphényl)-2-nitréthyle à partir de 4-méthoxybenzaldéhyde, de nitrométhane et d'acétate de vinyle à l'aide d'un MMCH à base de MOF ZIF-67 (Co²⁺), de la CalA et de nanocristaux de Pd. La réaction est réalisée à température ambiante dans un mélange THF/Toluène:4/1 (figure adaptée d'après Dutta *et coll.* [31]).

Ajoutons que les auteurs ont pu appliquer leur stratégie de synthèse à une variété d'aldéhydes et qu'ils ont pu obtenir dans tous les cas une conversion supérieure à 99 % avec un *ee* aussi supérieur à 99 %. De manière additionnelle, le catalyseur a montré une bonne recyclabilité avec une activité résiduelle modérément affectée (> 89 %), permettant un rendement de 86 % et un *ee* > 80 % après cinq étapes de recyclage successives. Précisons tout de même que ces rendements ont été obtenus après un accroissement léger du temps réactionnel, ce dernier passant de 20 à 35 h entre le premier et le cinquième cycle. Enfin, les auteurs se sont intéressés à la présence d'un effet de synergie entre les catalyseurs co-immobilisés dans le MOF. En étudiant les différentes combinaisons de catalyseurs libres et

immobilisés, les auteurs ont pu mettre en évidence que seul le MMCH donnait des résultats (rendement et stéréosélectivité) aussi élevés. La seconde meilleure combinaison ayant permis d'atteindre un rendement d'environ 60 %, avec un *ee* de 35 % avec des enzymes et des nanoparticules de palladium immobilisés dans des cristaux de MOF séparés. Toutes les autres combinaisons ont conduit à des résultats moins satisfaisants. Ceci confirme donc l'intérêt de la co-immobilisation de catalyseurs en matériaux multi-catalytiques hybrides, dans le but de générer des effets de synergie entre ces derniers. Pour finir, les auteurs ont ici aussi montré que si la présence des enzymes dans les mésopores pouvait entraîner leur obturation partielle, les micropores créés par la structure cristalline du ZIF-67 permettaient aux substrats et produits de circuler librement au sein du matériau. Ceci démontre combien ce type de structure, dont la taille des pores peut être modulable, représente un avantage pour la construction de matériaux hybrides au sein desquels les sites catalytiques immobilisés présentent des tailles radicalement différentes et un environnement approprié (voire optimisé). Ajoutons à cela que plusieurs autres MOFs présentant eux-aussi des tailles de pores importantes ont déjà été développés et utilisés avec succès pour l'immobilisation d'enzymes, comme le PCN-333, le PCN-888, ou encore la famille des NU-100x, ce qui promet un bel avenir pour ce type de matériaux dans le cadre d'élaboration de MMCHs.[29] Pour finir, les MOFs ne sont évidemment pas la seule famille de nanomatériaux souples prometteuse pour la co-immobilisation d'enzymes et de catalyseurs métalliques. On peut bien évidemment citer leur équivalent organique, les « *covalent organic frameworks* » ou COFs, même si leur structure plus rigide limite leurs propriétés d'adaptation pour la création de MMCH. On peut aussi mentionner d'autres classes de matériaux encore moins courants comme les « *metal-biosurfactant nanocomposites* », qui ont d'ailleurs déjà été exemplifiés pour la synthèse de MMCH avec l'immobilisation d'une lipase et d'un complexe de Shvo, un catalyseur au ruthénium, réalisant des réactions de résolution cinétique dynamique.[32]

Un appel à la collaboration interdisciplinaire

En conclusion, nous espérons avoir pu démontrer à travers cet article que la catalyse hybride représente une discipline qui peut offrir de très nombreux avantages pour la synthèse catalytique de composés d'intérêt. La grande versatilité de structures et de catalyseurs qu'il est théoriquement possible de mettre au point décuple la diversité des composés accessibles, tout en proposant des économies d'atomes et d'énergies substantielles, notamment au regard des bioraffineries de demain. Cependant, ce champ de recherche est encore très jeune, et de très nombreux défis restent encore à relever tant sur le plan des catalyseurs chimiques et biologiques en eux-mêmes, que dans le domaine des matériaux et du développement de procédés innovants pour réaliser la combinaison efficace de ces derniers. Il conviendra alors de favoriser prioritairement la communication et la collaboration entre chimistes et biologistes dont les préoccupations actuelles sont encore assez éloignées (avec certaines réticences des biologistes vis-à-vis de la chimie et vice-versa). Il existe à présent, en effet, un consensus concernant le fait que les prochaines innovations bénéficieront d'une intensification des efforts de recherche interdisciplinaires. Ainsi, nul doute que le renforcement des collaborations entre ces deux mondes permettra effectivement d'ouvrir un nouveau champ de connaissances et de conduire à la mise en œuvre de nouveaux procédés industriels pour répondre aux enjeux sociétaux des prochaines décennies.

Remerciements

Les auteurs remercient chaleureusement le Pr. Thierry Gefflaut, Le Pr. Sébastien Paul, le Dr. Thierry Loiseau, et le Dr. Joël Barrault pour les nombreuses discussions et échanges de points de vue qui ont largement contribué à l'écriture de ce dossier. Les auteurs remercient aussi la plateforme REALCAT financée par une subvention gouvernementale française gérée par l'Agence nationale de la recherche (ANR) dans le cadre du programme "Investissements

d'avenir" (ANR-11-EQPX-0037). La région Hauts-de-France, le FEDER, l'Ecole Centrale de Lille et la Fondation Centrale Initiatives sont également chaleureusement remerciés pour leur contribution financière à l'acquisition des équipements de la plateforme REALCAT. Enfin, cette étude a été soutenue par le gouvernement français à travers le Programme Investissement d'Avenir (I-SITE ULNE / ANR-16-IDEX-0004 ULNE) géré par l'Agence Nationale de la Recherche.

Bibliographie

- [1] de Souza, S. P., Leão, R. A. C., Bassut, J. F., Leal, I. C. R., Wang, S., et al., New Biosilified Pd-lipase hybrid biocatalysts for dynamic resolution of amines, *Tetrahedron Letters*, **2017**, 58, 4849–4854.
- [2] Douglas, T., Dickson, D. P. E., Betteridge, S., Charnock, J., Garner, C. D., et al., Synthesis and Structure of an Iron(III) Sulfide-Ferritin Bioinorganic Nanocomposite, *Science*, **1995**, 269, 54–57.
- [3] Meldrum, F. C., Wade, V. J., Nimmo, D. L., Heywood, B. R., Mann, S., Synthesis of inorganic nanophase materials in supramolecular protein cages, *Nature*, **1991**, 349, 684–687.
- [4] San, B. H., Kim, S., Moh, S. H., Lee, H., Jung, D.-Y., et al., Platinum Nanoparticles Encapsulated by Aminopeptidase: A Multifunctional Bioinorganic Nanohybrid Catalyst, *Angewandte Chemie International Edition*, **2011**, 50, 11924–11929.
- [5] Li, X., Cao, Y., Luo, K., Sun, Y., Xiong, J., et al., Highly active enzyme–metal nanohybrids synthesized in protein–polymer conjugates, *Nat Catal*, **2019**, 2, 718–725.
- [6] Filice, M., Marciello, M., del Puerto Morales, M., Palomo, J. M., Synthesis of heterogeneous enzyme–metal nanoparticle biohybrids in aqueous media and their applications in C–C bond formation and tandem catalysis, *Chemical Communications*, **2013**, 49, 6876–6878.
- [7] Gustafson, K. P. J., Gorbe, T., de Gonzalo, G., Yuan, N., Schreiber, C. L., et al., Chemoenzymatic Dynamic Kinetic Resolution of Primary Benzylic Amines using Pd(0)-CalB CLEA as a Biohybrid Catalyst, *Chem.-Eur. J.*, **2019**, 25, 9174–9179.
- [8] Görbe, T., Gustafson, K. P. J., Verho, O., Kervefors, G., Zheng, H., et al., Design of a Pd(0)-CalB CLEA Biohybrid Catalyst and Its Application in a One-Pot Cascade Reaction, *ACS Catalysis*, **2017**, 7, 1601–1605.
- [9] Li, Z., Ding, Y., Wu, X., Ge, J., Ouyang, P., et al., An enzyme–copper nanoparticle hybrid catalyst prepared from disassembly of an enzyme–inorganic nanocrystal three-dimensional nanostructure, *RSC Advances*, **2016**, 6, 20772–20776.
- [10] Li, X., Cao, X., Xiong, J., Ge, J., Enzyme-Metal Hybrid Catalysts for Chemoenzymatic Reactions, *Small*, **2019**, 1902751.
- [11] Schmidt, S., Castiglione, K., Kourist, R., Overcoming the Incompatibility Challenge in Chemoenzymatic and Multi-Catalytic Cascade Reactions, *Chemistry - A European Journal*, **2018**, 24, 1755–1768.
- [12] Jagadeesan, D., Vernekar, D., Gupta, S., Jaiswal, G., New Opportunities in

Heterogeneous Catalysis, *Proceedings of the Indian National Science Academy*, **2018**, *85*, 23–41.

[13] Davis, R. J., New perspectives on basic zeolites as catalysts and catalyst supports, *Journal of Catalysis*, **2003**, *216*, 396–405.

[14] Corma, A., Martinez, A., Zeolites and Zeotypes as catalysts, *Advanced Materials*, **1995**, *7*, 137–144.

[15] Vennestrøm, P. N. R., Taarning, E., Christensen, C. H., Pedersen, S., Grunwaldt, J.-D., et al., Chemoenzymatic Combination of Glucose Oxidase with Titanium Silicalite-1, *ChemCatChem*, **2010**, *2*, 943–945.

[16] Smeets, V., Baaziz, W., Ersen, O., Gaigneaux, E., Boissière, C., et al., Hollow Zeolite Microspheres as a Nest for Enzymes: a New Route to Hybrid Heterogeneous Catalysts, *Chem. Sci.*, **2019**, DOI 10.1039/C9SC04615A.

[17] Engström, K., Johnston, E. V., Verho, O., Gustafson, K. P. J., Shakeri, M., et al., Co-immobilization of an Enzyme and a Metal into the Compartments of Mesoporous Silica for Cooperative Tandem Catalysis: An Artificial Metalloenzyme, *Angewandte Chemie International Edition*, **2013**, *52*, 14006–14010.

[18] Zhang, N., Huebner, R., Wang, Y., Zhang, E., Zhou, Y., et al., Surface-Functionalized Mesoporous Nanoparticles as Heterogeneous Supports To Transfer Bifunctional Catalysts into Organic Solvents for Tandem Catalysis, *ACS Appl. Nano Mater.*, **2018**, *1*, 6378–6386.

[19] Ganai, A. K., Shinde, P., Dhar, B. B., Gupta, S. S., Prasad, B. L. V., Development of a multifunctional catalyst for a “relay” reaction, *RSC Adv.*, **2013**, *3*, 2186–2191.

[20] Jin, R., Kong, D., Zhao, X., Li, H., Yan, X., et al., Tandem catalysis driven by enzymes directed hybrid nanoflowers for on-site ultrasensitive detection of organophosphorus pesticide, *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, *141*, UNSP 111473.

[21] Xue, T., Peng, B., Xue, M., Zhong, X., Chiu, C.-Y., et al., Integration of molecular and enzymatic catalysts on graphene for biomimetic generation of antithrombotic species, *Nature Communications*, **2014**, *5*, 3200.

[22] Wang, Y., Zhang, N., Hübner, R., Tan, D., Löffler, M., et al., Enzymes Immobilized on Carbon Nitride (C₃N₄) Cooperating with Metal Nanoparticles for Cascade Catalysis, *Adv. Mater. Interfaces*, **2019**, *6*, 1801664.

[23] Wang, Y., Zhang, N., Zhang, E., Han, Y., Qi, Z., et al., Heterogeneous Metal–Organic-Framework-Based Biohybrid Catalysts for Cascade Reactions in Organic Solvent, *Chemistry – A European Journal*, **2019**, *25*, 1716–1721.

[24] Abednatanzi, S., Gohari Derakhshandeh, P., Depauw, H., Coudert, F.-X., Vrielinck, H., et al., Mixed-metal metal–organic frameworks, *Chem. Soc. Rev.*, **2019**, *48*, 2535–2565.

[25] Karmakar, A., Pombeiro, A. J. L., Recent advances in amide functionalized metal organic frameworks for heterogeneous catalytic applications, *Coordination Chemistry Reviews*, **2019**, *395*, 86–129.

[26] Dhakshinamoorthy, A., Asiri, A. M., Garcia, H., Mixed-metal or mixed-linker metal organic frameworks as heterogeneous catalysts, *Catal. Sci. Technol.*, **2016**, *6*, 5238–5261.

[27] Chen, L., Xu, Q., Metal-Organic Framework Composites for Catalysis, *Matter*, **2019**, *1*, 57–89.

[28] Wang, Q., Zhang, X., Huang, L., Zhang, Z., Dong, S., GOx@ZIF-8(NiPd) Nanoflower: An Artificial Enzyme System for Tandem Catalysis, *Angew. Chem.-Int. Edit.*, **2017**, *56*, 16082–16085.

[29] Lian, X., Fang, Y., Joseph, E., Wang, Q., Li, J., et al., Enzyme–MOF (metal–organic framework) composites, *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, *46*, 3386–3401.

- [30] Wu, Y., Shi, J., Mei, S., Katimba, H. A., Sun, Y., et al., Concerted Chemoenzymatic Synthesis of α -Keto Acid through Compartmentalizing and Channeling of Metal–Organic Frameworks, *ACS Catal.*, **2020**, 9664–9673.
- [31] Dutta, S., Kumari, N., Dubbu, S., Jang, S. W., Kumar, A., et al., Highly Mesoporous Metal–Organic Frameworks as Synergistic Multimodal Catalytic Platforms for Divergent Cascade Reactions, *Angewandte Chemie International Edition*, **2020**, 59, 3416–3422.
- [32] Li, H., Qiu, C., Cao, X., Lu, Y., Li, G., et al., Artificial Nanometalloenzymes for Cooperative Tandem Catalysis, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2019**, 11, 15718–15726.