

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

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

**Partie 3/4 : 50 nuances de catalyse hybride**

**Part 3/4 : Fifty shades of hybrid catalysis**

Dr. Egon Heuson,<sup>1,\*</sup> Pr. Rénato Froidevaux,<sup>1</sup> Dr. Jean-Sébastien Girardon,<sup>2</sup> Pr.IVALDO  
Itabaiana Jr,<sup>2,3</sup> Dr. Robert Wojcieszak,<sup>2</sup> Dr. Mickaël Capron,<sup>2</sup> Sébastien Paul,<sup>2</sup> Pr. Franck  
Dumeignil<sup>2</sup>

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

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

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

**Mots clefs : Catalyse Hybride, Résolution Cinétique Dynamique, Régénération  
De Cofacteurs, Cosubstrats, Réactions Multi-Catalytiques, Diversification Des Voies De  
Synthèse**

**Keywords: Hybrid Catalysis, Dynamic Kinetic Resolution, Cofactor  
Regeneration, Cosubstrates, Multi-Catalytic Reactions, Synthesis Pathway  
Diversification**

---

\* Auteurs de correspondance ; E-mail : [egon.heuson@univ-lille.fr](mailto:egon.heuson@univ-lille.fr), [franck.dumeignil@univ-lille.fr](mailto:franck.dumeignil@univ-lille.fr)

## **Résumé**

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

## **Abstract**

Hybrid catalysis emerged about 20 years ago. This discipline aimed at combining a chemical catalyst with a biological catalyst to produce a multi-catalyst system, with additional properties compared to those of single catalysts, has long remained little studied because it calls on a wide range of skills that are rarely brought together in joint work. In recent years, however, the growing interest in inter- or even trans-disciplinary research has greatly

benefited its development and the number of examples of hybrid catalysis applications is now growing exponentially. Historically developed for kinetic resolution and uprooting processes, hybrid catalysis is now illustrated in many fields, with very different purposes, from the regeneration of costly enzyme co-substrates to the implementation of integrated catalytic tandems allowing the synthesis of previously inaccessible compounds. In this respect, it benefits from numerous advances in chemistry and biology/molecular biology, whether in terms of new modelling or analytical techniques, the possibility of designing new, more efficient and tolerant catalysts, or the development of more efficient reaction devices thanks to reactor and process engineering. This important diversity of catalysts and techniques now represents a promising hope for the renewal of catalysis that is struggling to meet tomorrow's environmental challenges.

Dans l'article précédent, nous avons présenté les grandes lignes du concept de catalyse hybride, et avons évoqué les principaux domaines de la catalyse dans lesquels ce concept peut s'appliquer. L'objet du présent article est de donner des exemples dans chacun de ces domaines avec des réalisations en catalyse hybride afin de démontrer les perspectives qu'offre cette approche par rapport aux systèmes multi-catalytiques n'utilisant qu'un seul type de catalyseur.

### **Résolution cinétique dynamique et variantes**

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

Deux molécules sont appelées « *énantiomères* » lorsqu'elles sont l'image l'une de l'autre dans un miroir plan, mais non superposables (telles les mains). Une molécule pouvant se trouver sous deux formes énantiomères est dite « *chirale* ». La chiralité d'une molécule peut être due à la présence d'un centre stéréogène (carbone asymétrique, etc.), à un axe ou à un plan de chiralité. Les deux énantiomères ont des propriétés physico-chimiques quasi-identiques, les rendant difficiles à séparer sans transformation préalable ou utilisation d'un catalyseur chiral lui aussi. Cependant il est possible de les distinguer, par exemple, en les faisant traverser par de la lumière polarisée : Suivant l'énantiomère considéré, le plan de polarisation du rayon incident sera dévié dans un sens ou dans l'autre, avec un angle propre à chaque molécule. Lorsque les deux énantiomères d'une même molécule sont en mélange équimolaire, on parle alors de mélange racémique, et ce dernier ne dévie plus le plan de

polarisation. C'est pourquoi chaque énantiomère est qualifié d'optiquement pur. L'énantiomère qui dévie le plan de polarisation vers la gauche (sens antihoraire) est dit « *lévogyre* », alors que celui qui dévie le plan vers la droite (sens horaire) est dit « *dextrogyre* ». Ajoutons que dans le cas où une molécule posséderait plus d'un centre asymétrique, ses différents stéréoisomères sont dans ce cas appelés « *diastéréoisomères* ».

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

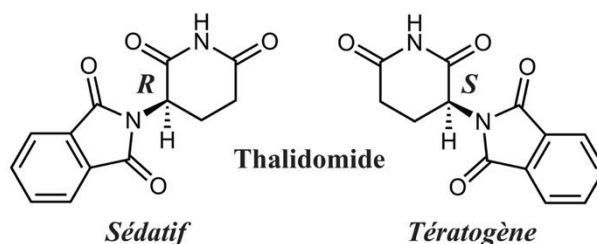


Fig. 1 : Les deux énantiomères du Thalidomide. L'énantiomère de configuration *R* est utilisé en pharmacologie pour ses propriétés sédatives et anti-vomissement, alors que l'énantiomère *S* est tératogène.

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

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

Ainsi, historiquement, ces réactions ont très tôt bénéficié de l'utilisation des enzymes, ces dernières étant particulièrement énantiosélectives comme évoqué précédemment. Cependant, par définition, le rendement de ces réactions reste limité à la concentration en énantiomère non transformé, soit 50 % (rendement théorique maximal dans ce cas). C'est afin de lever ce verrou que le concept de DKR a été mis au point. Lors des réactions en DKR, l'énantiomère non transformé par le premier catalyseur est constamment racémisé par un second catalyseur pour régénérer l'autre énantiomère, qui sera ensuite converti. Cette seconde étape permet alors de retransformer en continu l'énantiomère non recherché en l'énantiomère voulu, ce qui permet d'atteindre théoriquement des rendements proches de 100 % (Fig. 2). Une variante, appelée « *déracémisation cyclique* » (« *Cyclic Deracemisation* », CD), décrit une réaction similaire dans laquelle le second catalyseur n'agit pas sur l'énantiomère restant, mais sur le produit de la première étape catalytique, souvent dans ce cas une molécule achirale. À l'inverse de la DKR qui aboutit à la formation d'un nouveau produit, cette méthode est efficace pour la déracémisation d'un mélange racémique, en libérant un seul des deux énantiomères du substrat à la fin du processus. Une troisième variante de cette stratégie, appelée « *recyclage des énantiomères mineurs* » (« *Minor Enantiomer Recycling* », MER), a été proposée par Moberg et décrit des réactions impliquant cette fois la conversion par un premier catalyseur d'un substrat achiral en un mélange d'énantiomères.[3–5] Après cette

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

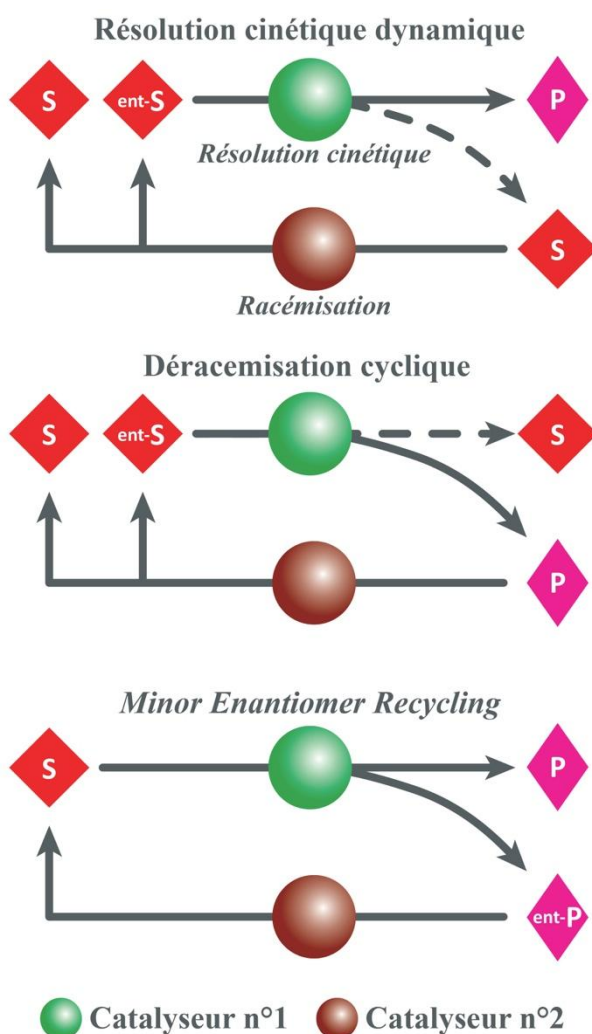


Fig. 2 : Résolution cinétique dynamique d'un mélange racémique de substrats (S) en un produit (P) à l'aide de deux catalyseurs (figure adaptée d'après Heuson et Dumeignil) [6]. S : Substrat ; ent-S : autre énantiomère du Substrat ; P : Produit ; ent-P : autre énantiomère du Produit

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

Sont dits « *thermophyles* » les organismes ayant besoin d'une température élevée, en générale comprise entre 50 °C et 70 °C pour pouvoir croître et se multiplier. Certains organismes requièrent des températures encore supérieures, allant de 80 °C à plus d'une centaine de degrés, et sont alors qualifiés d'« *hyperthermophyles* ». À l'inverse, les organismes qui nécessitent des températures inférieures à 10 °C (jusqu'à -12 °C) sont qualifiés de « *psychrophiles* ». Suivant leurs tolérances, ces organismes vont produire dans une certaine mesure, des enzymes possédant des tolérances à des températures similaires à celles de ces derniers.

Ajoutons qu'une partie importante d'entre-elles a rapidement pu être immobilisée pour en permettre le recyclage. De part ces propriétés, les lipases se rapprochent de nombreux



catalyseurs chimiques travaillant en solvants organiques à relativement haute température, ce qui les rend particulièrement compatibles pour les procédés catalytiques hybrides.

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

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

Nous ne citerons donc pas ici tous les exemples de réalisations hybrides impliquant des lipases, mais nous pouvons mentionner le procédé récemment développé par une partie des auteurs du présent article, dans lequel la lipase B de *Candida antarctica* (CalB) a été immobilisée par liaison covalente sur de la silice fonctionnalisée pourvue de nanoparticules palladium supportées [11]. La création de ce matériau multicatalytique a permis de simplifier la résolution cinétique dynamique de l' $\alpha$ -méthylbenzylamine (MBA) impliquant habituellement plusieurs catalyseurs dans des étapes séparées, ou à des concentrations plus élevées (Fig. 3).

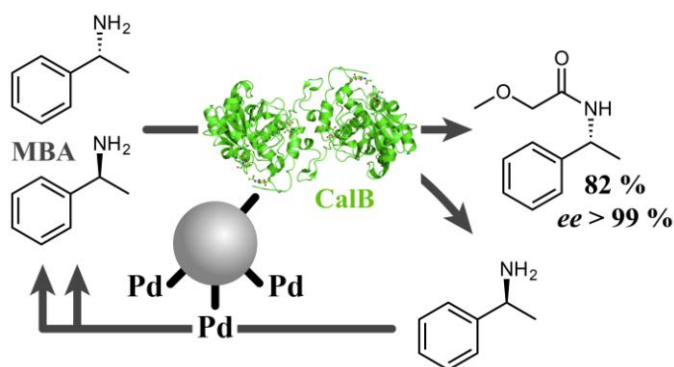


Fig. 3 : Déracémisation de l' $\alpha$ -méthylbenzylamine (MBA) à l'aide d'un catalyseur combinant la lipase B de *Candida antarctica* (CalB) et des nanoparticules de palladium immobilisées sur billes de silice. Lorsque l'acide 2-méthoxyéthanoïque est ajouté comme substrat de l'enzyme, ce procédé de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

Un excès énantiomérique final supérieur à 99 % à 82 % de conversion avec 1 % massique de Pd a été mis en évidence, aboutissant à une productivité de 2,21 mg.h<sup>-1</sup> par mg de support contre 0,76 mg.h<sup>-1</sup> avec la lipase commerciale habituelle, la Novozyme 435<sup>®</sup>. Par ailleurs, ce nouveau catalyseur hybride fait preuve d'une charge protéique 15 fois plus faible et d'une activité supérieure à celle des solutions commerciales actuelles, démontrant un intérêt notable pour des applications industrielles. Notons que le même procédé a été étudié par les auteurs avec des nanoparticules de palladium cette fois immobilisées sur un support séparé, et l'excès énantiomérique observé était inférieur. Ceci démontre parfaitement le potentiel de la catalyse hybride pour la création d'effets de synergie entre des centres catalytiques disposés à proximité.

### Régénération de cosubstrats

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

Originellement, l'appellation « cofacteur » désigne des molécules non protéiques nécessaires à l'activité d'une enzyme et qui, faisant partie du système catalytique, se régénèrent au cours de la réaction. Par abus de langage, ce terme englobe également d'autres molécules aux fonctions similaires mais qui ne sont pas automatiquement régénérées. La NADH et le FADH<sub>2</sub>, par exemple, sont souvent qualifiés de cofacteurs mais

sont plutôt *stricto sensu* des cosubstrats. Leur coût étant élevé, on préférera alors les régénérer plutôt que d'en envisager l'utilisation en quantités stœchiométriques. Leur régénération nécessite des étapes additionnelles, qu'il est ainsi nécessaire de réaliser pour déverrouiller les cycles catalytiques correspondants.

Au niveau naturel, ces cosubstrats sont régénérés au sein de la cellule par quantité de réactions parallèles mais, dans le cas des procédés chimiques, une stratégie dédiée doit être mise en place. S'il est possible d'utiliser une autre enzyme pour effectuer cette étape en mimant ce qui se produit au niveau cellulaire, l'utilisation d'un catalyseur chimique peut s'avérer très avantageuse car ces derniers sont souvent plus stables, moins coûteux, recyclables, et susceptibles de ne pas être inhibés par les substrats et produits de l'enzyme. Cependant, si l'on trouve une littérature assez variée mais au demeurant peu abondante concernant la régénération chimique de cofacteur en tant que telle, les exemples de régénération lors d'une réaction enzymatique restent encore extrêmement rares. L'équipe de Gröger a été parmi les premières à proposer une régénération de cosubstrats assistée par un catalyseur chimique lors d'une réaction enzymatique. Dans un exemple pionnier [12], ces auteurs utilisent une porphyrine de fer(III) (sulfonée afin d'améliorer sa solubilité en phase aqueuse) afin de régénérer le  $\text{NAD(P)}^+$  nécessaire à la transformation d'un alcool secondaire en cétone correspondante par une alcool déshydrogénase.

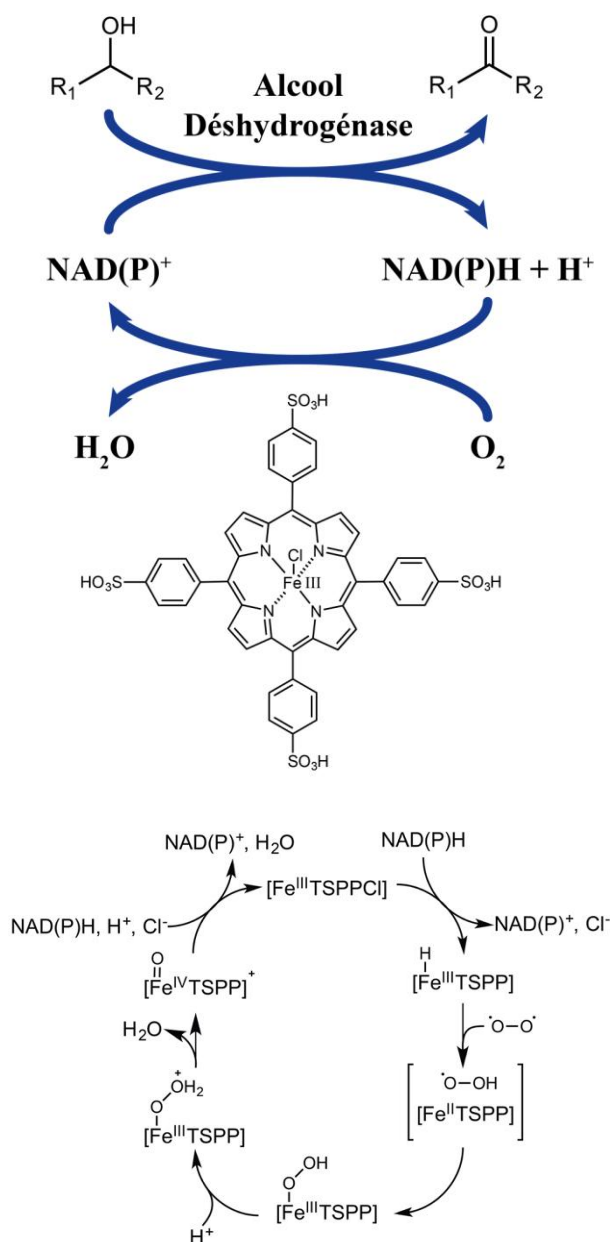


Fig. 4 : Méthodologie proposée par Gröger pour la régénération du cosubstrat  $\text{NAD(P)}^+$  basée sur l'utilisation d'une porphyrine de Fer III, dans le cadre de l'utilisation d'une alcool déshydrogénase. Le complexe organométallique utilise le dioxygène solubilisé dans le milieu réactionnel pour effectuer l'oxydation du  $\text{NAD(P)H}$  selon un mécanisme en 6 étapes.

Les auteurs proposent le mécanisme suivant (Fig. 4) : Un complexe d'hydrure de fer(III)  $\text{NAD(P)H}$  est formé à partir de la métalloporphyrine et de la forme réduite du cofacteur. Il est ensuite transformé en complexe hydroperoxo de fer par coordination et réduction d'oxygène moléculaire. Cette étape semble pouvoir se dérouler par clivage

homolytique de la liaison Fe-H dans la formation du complexe, qui se compose d'une espèce de Fe(II) et d'un radical hydroperoxy. Après protonation et élimination de l'eau (analogue au mécanisme observé pour les monooxygénases P450) le complexe péroxo de fer formé est transformé en espèce oxo de Fe(IV). L'étape finale consiste en la régénération de l'espèce initiale de porphyrine de fer III avec libération d'une molécule d'eau. Une telle exécution permet de s'affranchir de l'utilisation d'une NDA(P)H-oxidase coûteuse et plus complexe à mettre en œuvre pour l'étape de régénération du cosubstrat en la substituant par un catalyseur chimique beaucoup moins complexe à produire et plus simple d'utilisation (porphyrine).

Les auteurs du présent article ont également utilisé le même type de stratégie dans le but d'optimiser la réaction de conversion du *D*-glucose en 5-hydroxyméthylfurfural (HMF). L'HMF est une molécule plateforme ouvrant la voie à la synthèse de nombreux composés possédant des applications dans les domaines des biocarburants, des biopolymères ou encore concernant tout un pan de la chimie fine, faisant d'elle l'une des molécules plateformes les plus étudiées. À l'heure actuelle, la manière la plus simple et la plus productive de synthétiser du HMF passe par la déshydratation catalytique du *D*-fructose, un hexocétose isomère du *D*-glucose. Le *D*-glucose peut, quant à lui, être obtenu de manière biosourcée à partir de la biomasse lignocellulosique dont il est l'un des constituants majeurs. Aussi, pour obtenir du HMF à partir de *D*-glucose, il convient de procéder à l'isomérisation de ce dernier en premier lieu afin d'obtenir le *D*-fructose. Cette réaction souffre cependant d'un équilibre thermodynamique peu favorable qui aboutit à la présence des deux sucres en quantités quasi-équivalentes. L'isomérisation chimique quantitative du glucose en fructose a, à ce titre, déjà fait l'objet de nombreuses études sans toutefois permettre d'atteindre une sélectivité suffisamment satisfaisante. Une stratégie efficace consiste alors à effectuer l'isomérisation à l'aide d'une enzyme, une glucose isomérase, et à coupler cette dernière à l'étape de déshydratation chimique, permettant de tirer l'équilibre réactionnel selon un procédé

catalytique hybride. Plusieurs tentatives ont déjà été réalisées dans cette optique, et nous en présenterons deux, l'une impliquant une étape d'isomérisation hybride présentée ci-après, et l'autre impliquant une compartimentation décrite dans la partie suivante « *Diversification des voies de synthèse* ». Concernant donc la première variante basée sur une étape d'isomérisation hybride, le *D*-glucose est d'abord hydrogéné en *D*-sorbitol, ce dernier étant ensuite déshydrogéné sélectivement en *D*-fructose par voie biocatalytique. Or, l'enzyme utilisée ici, la sorbitol déshydrogénase, requiert l'utilisation de  $\text{NAD}^+$  comme cosubstrat pour effectuer la réaction, ce dernier devant alors être régénéré tout au long de la réaction à partir du  $\text{NADH}$  formé, comme nous l'avons évoqué précédemment. Pour cela, une partie des auteurs de ce présent article a mis en œuvre et caractérisé l'action d'un catalyseur chimique basé sur un complexe d'iridium, qui permet de convertir efficacement le  $\text{NADH}$  en  $\text{NAD}^+ + \text{H}_2$  (Fig. 5).

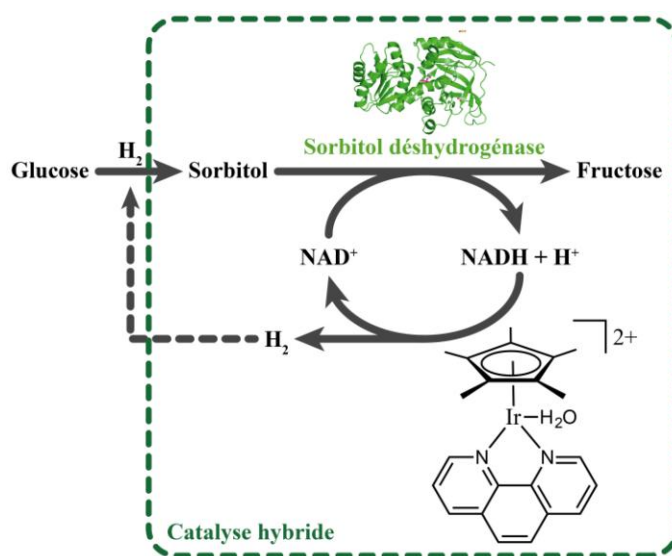


Fig. 5 : Système catalytique hybride permettant la régénération du  $\text{NAD}^+$ , cosubstrat de la sorbitol déshydrogénase utilisée pour transformer le sorbitol en fructose. Dans ce procédé, le  $\text{NADH}$  est ré-oxydé en  $\text{NAD}^+$  à l'aide d'un complexe d'Iridium. Le dihydrogène libéré durant la réaction peut alors être utilisé pour l'étape réactionnelle précédente, mettant en jeu la conversion du glucose en sorbitol.

Ce catalyseur s'est montré assez inerte vis-à-vis de l'enzyme, permettant de régénérer le  $\text{NAD}^+$  *in situ* en présence de l'étape biocatalytique en limitant la dégradation des substrats et produits. Ces travaux ont déjà fait l'objet de plusieurs publications, mais des résultats plus

récents ont aussi permis de montrer que le système complet (substrat + cofacteur + enzyme + complexe organométallique) était en mesure de fonctionner pour la synthèse du *D*-fructose à partir de *D*-sorbitol et que le catalyseur chimique permet au moins 3 cycles catalytiques consécutifs. Cependant, les pH optimaux des deux catalyseurs n'étant pas identiques, il reste un travail conséquent à effectuer avant de pouvoir mettre au point le procédé complet. Au vu de ces premiers résultats, le principal avantage de cette stratégie, outre la réduction du coût en cosubstrat, réside dans le fait qu'elle génère du dihydrogène comme coproduit, ce dernier pouvant être récupéré sous pression réduite afin de déplacer l'équilibre de l'isomérisation. Notons que l'hydrogène produit est également utilisable pour la réduction préliminaire du *D*-glucose en *D*-sorbitol (Fig. 5). Ce type de réalisation démontre bien l'intérêt de la catalyse hybride pour la régénération de cosubstrats et, plus largement, pour l'obtention de meilleurs rendements en s'affranchissant d'équilibres réactionnels.

### **Diversification des voies de synthèse**

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

### **Rapprochement des catalyseurs par génie des procédés**

La première approche qui s'offre alors consiste, comme nous l'avons vu, à jouer sur le procédé catalytique de manière « *physique* » en réalisant des procédés en 2P1S. Regroupant les domaines de la chimie des interfaces et du génie des procédés/des réacteurs. Cette

stratégie consiste dans la plupart des cas à séparer les deux catalyseurs dans deux zones distinctes, départagées par une membrane (« *compartmentation* »). On pourra par exemple citer les membranes liquides qui ne laissent passer que certains composés chimiques d'une zone à l'autre, ou encore tous les types de membranes solides qui permettent une compartimentation au sein d'un même réacteur (membranes cellulaires, polymères, etc.). Ainsi, de manière générale, cette stratégie suit un schéma où chaque étape de la réaction est réalisée dans un environnement différent, mais en tandem pour que la transformation se fasse directement du réactif au produit souhaité.

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

À l'instar de la catalyse hybride en général, les premiers exemples de nouveaux procédés de ce type ont été mis au point afin d'améliorer les réactions de déracémisation, telles que précédemment décrites. On peut alors citer un premier exemple mettant en œuvre la combinaison d'une monoamine oxydase et de nanoparticules de palladium pour effectuer la déracémisation cyclique de la *1*-méthyltétrahydroisoquinoline (MTQ). La (*S*)-MTQ est oxydée sélectivement en présence d'oxygène par la monoamine oxydase, afin de former de la *1*-méthyl-3,4-dihydroisoquinoline (MDQ), qui est ensuite réduite en présence d'hydrogène pour conduire à la formation du mélange racémique, enrichissant de ce fait la solution en l'autre énantiomère. Les deux catalyseurs intervenant dans deux étapes séparées dans des conditions opératoires très différentes, Turner *et coll.* ont utilisé la membrane de la cellule



hôte responsable de la production de l'enzyme comme séparation physique entre ces derniers (Fig. 6)[13]. La nécessité d'isoler l'enzyme du catalyseur chimique vient de sa sensibilité à la présence d'hydrogène lors des cycles d'hydrogénation et du fait qu'elle est inhibée au contact des nanoparticules métalliques. De manière intéressante, afin de proposer un catalyseur unique, les nanoparticules sont immobilisées sur la membrane de la cellule. Le système est alors mis en œuvre sous la forme de cycles oxygénation/hydrogénation de manière à ce que le composé gazeux nécessaire à chaque étape puisse être éliminé avant la suivante pour ne pas la perturber. Cette stratégie permet d'obtenir la (*R*)-MTQ avec un excès énantiomérique supérieur à 96 % après 5 cycles.

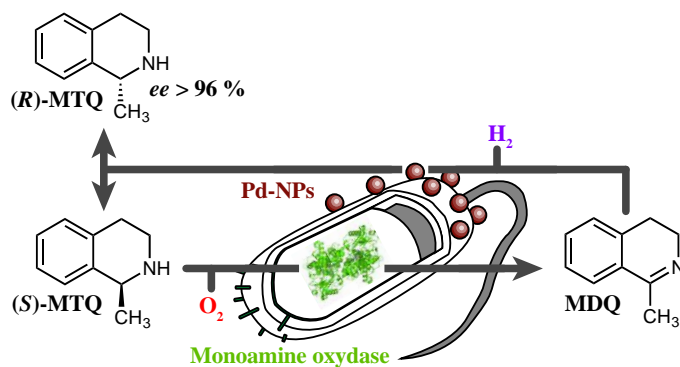


Fig. 6 : Stratégie de déracémisation de la 1-méthyl-tétrahydroisoquinoline (MTQ) basée sur le couplage d'une monoamine oxydase, oxydant la (*S*)-MTQ en 1-méthyl-3,4-dihydroisoquinoline (MDQ), avec des nanoparticules de palladium (Pd-NPs) chargées de déracémiser la MDQ par hydrogénation réductrice. Pour ce procédé, l'enzyme est encapsulée dans la membrane plasmique de la bactérie, alors que le catalyseur chimique est greffé en surface de cette dernière (figure adaptée d'après Foulkes *et coll.* [13]).

Sans cette mise en œuvre, la déracémisation est impossible. Toutefois, l'utilisation de cellules entières ou microorganismes présente généralement l'inconvénient d'apporter des contaminations dans le milieu dues à la présence des nutriments nécessaires à leur action. La recherche d'autres types de membranes présente donc un intérêt certain dans le cas de l'utilisation de catalyseurs sensibles aux espèces présentes dans le milieu réactionnel. On peut citer l'oxydation du styrène qui débute *via* un catalyseur chimique de type CuCl/PdCl<sub>2</sub> pour

former de l'acétophénone en présence d'oxygène, suivi d'une étape de réduction en *I*-phényléthanol à l'aide d'une alcool déshydrogénase [14]. Bien que les deux réactions se déroulent en milieu aqueux, le verrou majeur concerne l'incompatibilité des deux catalyseurs en raison de la désactivation enzymatique par les ions cuivre. Pour lever ce verrou, le procédé est réalisé en isolant chaque réaction grâce à une membrane de polydiméthylsiloxane (PDMS). La porosité du PDMS permet la diffusion unique du substrat organique et du produit vers la partie extérieure où la catalyse enzymatique a lieu (Fig. 7). Grâce à cette approche, un taux de conversion de 85% est obtenu vers la formation de l'énantiomère de configuration (*R*), avec un excès énantiomérique (*ee*) proche de 100%. L'étude de recyclabilité a permis de montrer qu'il est possible de réaliser jusque 15 cycles réactionnels sur une durée de 60 jours sans perdre d'activité catalytique, rendant possible la perspective d'une application au niveau industriel.

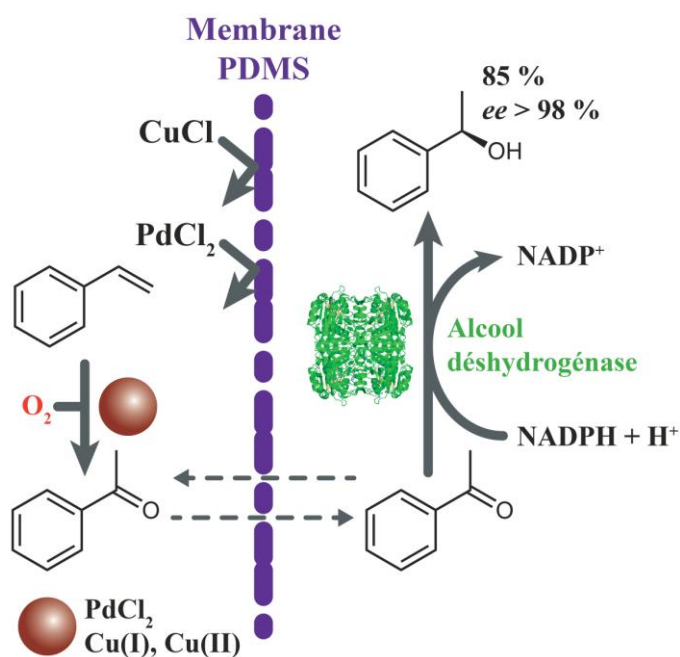


Fig. 7 : Procédé membranaire hybride permettant la conversion du styrène en (*R*)-*I*-phényléthane-*I*-ol basé sur la combinaison d'un catalyseur Cu-Pd et d'une alcool déshydrogénase. Activité enzymatique et catalyse chimique sont isolées par la membrane en PDMS qui ne laisse passer que l'intermédiaire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

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

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

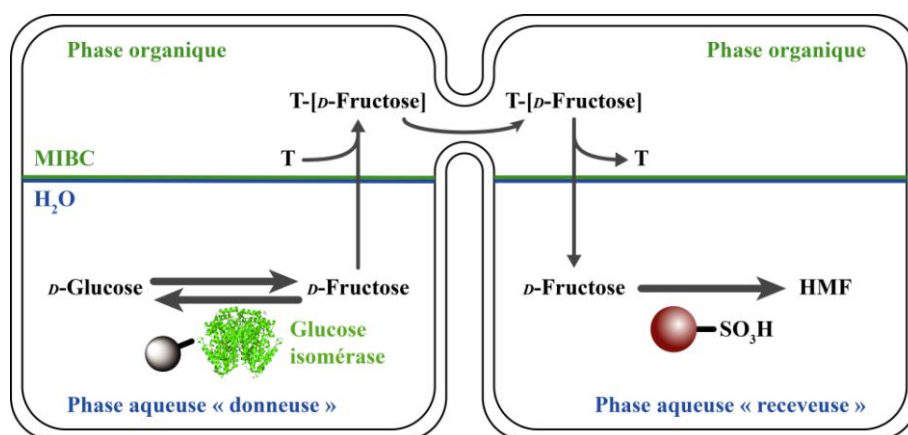


Fig. 8 : Procédé hybride biphasique permettant la synthèse du 5-hydroxyméthylfurfural (HMF) à partir de glucose, par couplage d'une glucose isomérase supportée et d'une résine sulfonique. Le fructose est transporté de la phase aqueuse « *donneuse* » vers la phase aqueuse « *receveuse* » à travers la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

La Fig. 9 est une représentation schématique du réacteur conçu pour permettre la réalisation de la catalyse hybride pour produire le HMF directement à partir du *D*-glucose. Après 32 heures de mise en œuvre à pH régulé (à 8,5 et 3,0, respectivement dans chaque compartiment) à 70 °C pour les deux compartiments, le rendement d'extraction atteint 97 %, tandis que le rendement d'isomérisation augmente pour atteindre 79 % tandis que le rendement en HMF atteint 31 % après 32 h à une conversion en glucose de 88 %. Le rendement d'extraction de 97 % montre un transport efficace au sein du réacteur. Le rendement d'isomérisation de 79 % démontre un déplacement de l'équilibre d'isomérisation de 29 points, grâce à l'extraction en continu du fructose de la phase aqueuse donneuse.

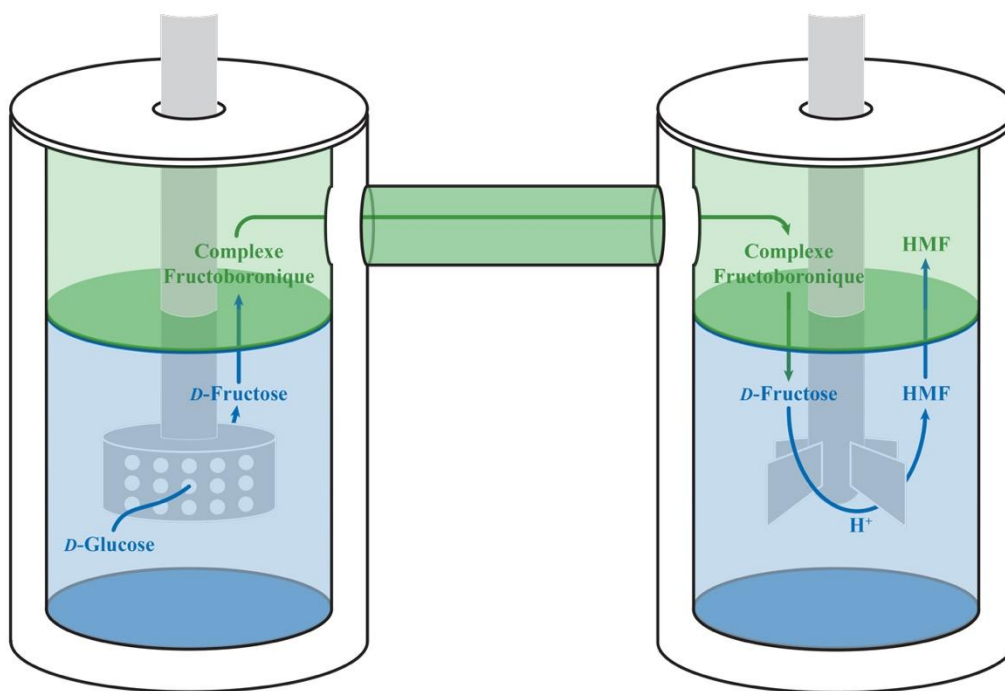


Fig. 9 : Schéma du procédé total de production du HMF à partir du glucose mis en œuvre dans un réacteur en « H ». Dans la première phase aqueuse (bleue), dite « *donneuse* », le *D*-glucose est isomérisé en *D*-fructose à l'aide d'une glucose isomérase supportée. Le *D*-fructose est ensuite complexé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

Le bilan matière de plus de 90 % pour espèces en phases aqueuses valide l'efficacité du relargage. Le rendement de déshydratation de 31 % après 32 h valide la production de HMF par catalyse hybride au sein du réacteur en « H ». C'est donc grâce à cette membrane liquide ou plutôt ce « *pont* » organique entre les deux phases aqueuses présentant une différence de pH de 5 unités, qu'un tandem entre catalyse enzymatique et chimique est créé, rendant accessible la transformation « *directe* » du glucose en HMF.

### **Combinaison des catalyseurs dans un même milieu réactionnel**

Dans le cas où les deux catalyseurs présentent des conditions opératoires légèrement plus compatibles, et ne sont pas ou peu inhibés l'un par l'autre, il devient alors possible de les faire directement cohabiter au sein d'un même réacteur. Cette association directe présente l'avantage de simplifier grandement les procédés mis œuvre, et d'ainsi réduire les coûts tant sur le plan financier qu'environnemental avec notamment une économie importante en solvant. Afin de profiter au maximum de ces avantages, les deux catalyseurs doivent, si possible, être introduits en début de réaction et fonctionner de manière concomitante. Ce type de procédé que nous avons qualifié précédemment de « *IPIS* » est idéal en catalyse hybride car l'économie d'atomes comme d'énergie y est maximale et les effets de synergie amplifiés. Cependant, s'il s'agit du type de procédé hybride le plus avantageux, il est extrêmement sophistiqué et demeure bien évidemment le plus complexe à mettre en œuvre. Ceci explique pourquoi le nombre d'exemples en 1P1S est encore assez faible, avec seulement 36 procédés décrits à l'aube de 2020 (Fig. 10).

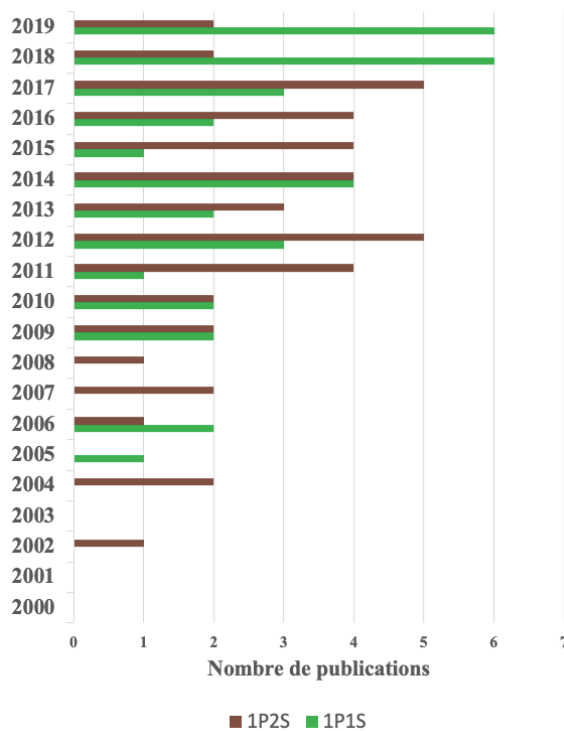


Fig. 10 : Nombre de publications en catalyse hybride décrivant jusqu'en 2019 des exemples selon un procédé 1P1S (vert) ou 1P2S (brun) (figure adaptée d'après Heuson et Dumeignil [6]).

Malgré ces difficultés de mise en œuvre, il convient de rester très optimiste, les réalisations s'appuyant sur la catalyse hybride pour la synthèse de nouveaux composés selon ce type de stratégie se multipliant désormais à vitesse impressionnante, avec une diversité de catalyseurs mis en jeu toujours plus grande. Les très récents travaux de Höhne *et coll.* en constituent très certainement l'un des meilleurs exemples [18]. Ces auteurs ont en effet réalisé le couplage de pas moins de 8 familles enzymatiques différentes avec un photocatalyseur organique de type quinonoïde (Fig. 11). Ce dernier est chargé d'introduire un groupement carbonyle sur divers substrats carbonés, qui deviennent alors substrats pour les différentes enzymes testées à travers un large panel de réactions. Au final, les auteurs ont pu obtenir par voie hybride 26 composés différents, dont 7 par procédé 1P1S, avec des rendements et des excès énantiomériques élevés (de 25 % à 99 % suivant la classe d'enzyme utilisée), allant pour certains d'entre eux jusqu'à une production à l'échelle du gramme. Les réactions en 1P1S se sont révélées particulièrement adaptées aux enzymes qui ne nécessitent pas de cosubstrats redox, telles que les lyases ou les transférases. Pour les autres classes d'enzymes, il serait alors possible de mettre en œuvre une stratégie hybride de régénération des cosubstrats telle que présentée plus haut. Avec la transformation des liaisons C-H en six groupes fonctionnels différents (alcools, carbonyles, acides carboxyliques, esters, amines et nitriles), cette étude démontre parfaitement à quel point la réalisation de tandems catalytiques, et plus particulièrement de tandems hybrides, peut introduire de la diversité moléculaire dans les réactions catalytiques. Ajoutons que dans ce cas, cette stratégie a en plus permis de générer beaucoup de valeur ajoutée, les auteurs étant partis de substrats facilement accessibles et peu onéreux comme des dérivés du toluène et du cyclohexène pour aboutir à la formation de composés complexes, possédant un ou plusieurs centres asymétriques, et pouvant directement servir de building blocks pour des procédés de synthèse pharmaceutique, par exemple.

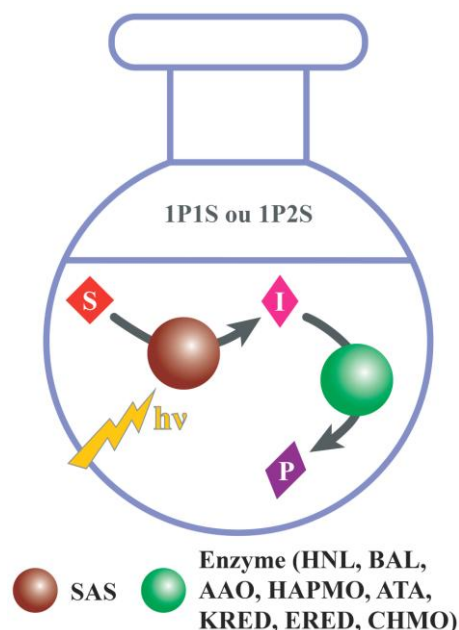


Fig. 11 : Combinaison d'un photocatalyseur organique (anthraquinone sulfonate de sodium, SAS) avec plusieurs familles d'enzymes (HNL, hydroxynitrile lyase ; BAL, benzaldéhyde lyase ; AAO, aryl-alcool oxydase ; HAPMO, 4-hydroxyacétophénone monooxygénase ; ATA, amine transaminase ; KRED, cétone réductase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

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



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

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

des effets de synergies jusqu'à la possibilité de les recycler par simple filtration. Ceux-ci font l'objet du quatrième et dernier article de ce dossier, dans lequel nous illustrerons leurs potentialités en synthèse.

- [1] Faber, K., *Biotransformations in Organic Chemistry: A Textbook*, Springer-Verlag, **2004**.
- [2] Challener, C. A., *Chiral Drugs*, Routledge, **2017**.
- [3] Moberg, C., Minor enantiomer recycling – a strategy to improve enantioselectivity, *Pure and Applied Chemistry*, **2016**, *88*, 309–316.
- [4] Hertzberg, R., Moberg, C., One-Step Preparation of O-( $\alpha$ -Bromoacyl) Cyanohydrins by Minor Enantiomer Recycling: Synthesis of 4-Amino-2(5H)-furanones, *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, 9174–9180.
- [5] Wingstrand, E., Laurell, A., Fransson, L., Hult, K., Moberg, C., Minor Enantiomer Recycling: Metal Catalyst, Organocatalyst and Biocatalyst Working in Concert, *Chemistry – A European Journal*, **2009**, *15*, 12107–12113.
- [6] Heuson, E., Dumeignil, F., The Various Levels of Integration of Chemo- and Bio-Catalysis towards Hybrid Catalysis, *Catalysis Science & Technology*, **2020**, in press.
- [7] Musa, M. M., Hollmann, F., Mutti, F. G., Synthesis of enantiomerically pure alcohols and amines via biocatalytic deracemisation methods, *Catal. Sci. Technol.*, **2019**, *9*, 5487–5503.
- [8] Turner, N. J., Deracemisation methods, *Current Opinion in Chemical Biology*, **2010**, *14*, 115–121.
- [9] Pàmies, O., Bäckvall, J.-E., Combination of Enzymes and Metal Catalysts. A Powerful Approach in Asymmetric Catalysis, *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 3247–3262.
- [10] de Miranda, A. S., Miranda, L. S. M., de Souza, R. O. M. A., Lipases: Valuable catalysts for dynamic kinetic resolutions, *Biotechnology Advances*, **2015**, *33*, 372–393.
- [11] 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.
- [12] Maid, H., Böhm, P., Huber, S. M., Bauer, W., Hummel, W., et al., Iron Catalysis for In Situ Regeneration of Oxidized Cofactors by Activation and Reduction of Molecular Oxygen: A Synthetic Metalloporphyrin as a Biomimetic NAD(P)H Oxidase, *Angewandte Chemie International Edition*, **2011**, *50*, 2397–2400.
- [13] Foulkes, J. M., Malone, K. J., Coker, V. S., Turner, N. J., Lloyd, J. R., Engineering a Biometallic Whole Cell Catalyst for Enantioselective Deracemization Reactions, *ACS Catalysis*, **2011**, *1*, 1589–1594.
- [14] Sato, H., Hummel, W., Gröger, H., Cooperative Catalysis of Noncompatible Catalysts through Compartmentalization: Wacker Oxidation and Enzymatic Reduction in a One-Pot Process in Aqueous Media, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, *54*, 4488–4492.
- [15] Gimbernat, A., Guehl, M., Lopes Ferreira, N., Heuson, E., Dhulster, P., et al., From a Sequential Chemo-Enzymatic Approach to a Continuous Process for HMF Production from Glucose, *Catalysts*, **2018**, *8*, 335.
- [16] Gimbernat, A., Guehl, M., Capron, M., Lopes Ferreira, N., Froidevaux, R., et al., Hybrid Catalysis: A Suitable Concept for the Valorization of Biosourced Saccharides to Value-Added Chemicals, *ChemCatChem*, **2017**, *9*, 2080–2084.
- [17] Gimbernat, A., Girardon, J.-S., Froidevaux, R., Lopes Ferreira, N., Delcroix, D., *Procédé de Production de 5-Hydroxyméthylfurfural à Partir d'hexoses*, FR3077221, **n.d.**
- [18] Zhang, W., Fueyo, E. F., Hollmann, F., Martin, L. L., Pesic, M., et al., Combining Photo-Organoredox- and Enzyme Catalysis Facilitates Asymmetric C-H Bond Functionalization, *Eur. J. Org. Chem.*, **2019**, 80–84.
- [19] Dumeignil, F., Guehl, M., Gimbernat, A., Capron, M., Ferreira, N. L., et al., From sequential chemoenzymatic synthesis to integrated hybrid catalysis: taking the best of both worlds to open up the scope of possibilities for a sustainable future, *Catalysis Science & Technology*, **2018**, *8*, 5708–5734.

[20] Wang, Y., Ren, H., Zhao, H., Expanding the Boundary of Biocatalysis: Design and Optimization of in vitro Tandem Catalytic Reactions for Biochemical Production, *Crit Rev Biochem Mol Biol*, **2018**, 53, 115–129.