Le fer dans le milieu vivant

par Michèle DUBUSC, Pierre BIANCO
Université de Provence
3, place Victor-Hugo, 13331 Marseille.

INTRODUCTION.

Le fer joue un rôle fondamental en milieu vivant. Il intervient en effet dans de nombreuses réactions (transport et stockage de l'oxygène, transferts électroniques, métabolisme de l'azote et de l'hydrogène, etc.) et NEILANDS [1] a même émis l'hypothèse que la vie sans le fer serait sans doute impossible.

Deux aspects de la chimie du fer sont à retenir dans l'examen de son comportement en milieu vivant :

1) l'existence de deux états d'oxydation stables, ferreux Fe(II) et ferrique Fe(III). Cette propriété commande tout ce qui concerne les réactions de transferts électroniques (respiration, photosynthèse, par exemple) ;

2) le fait qu'aux pH biologiques, l'ion ferrique subisse une forte hydrolyse schématisée par la réaction :

$$Fe^{3+} + 3\,H_2O \rightleftarrows Fe(OH)_3 + 3\,H^+$$

conduisant à l'hydroxyde de fer (III) très peu soluble ($\sim 10^{-37}$ M) et pouvant donner d'autres hydroxocomplexes, eux aussi pratiquement insolubles, de telle sorte que la concentration en cation $Fe^{3+}{}_{(aq)}$ libre à pH 7 est extrêmement faible ($\sim 10^{-17}$ M) d'après [2]. Il résulte de ceci que les organismes, au cours de leur évolution, ont été obligés d' « imaginer » des molécules complexant spécifiquement le fer pour le maintenir sous une forme soluble utilisable pour le transport et la biosynthèse des enzymes. De tels complexants doivent être suffisamment forts pour éviter la formation des produits d'hydrolyse insolubles, mais en même temps doivent permettre une restitution facile du métal « à la commande » suivant les besoins des cellules.

PRINCIPALES FONCTIONS DES MOLECULES BIOLOGIQUES CONTENANT DU FER [1].

1° transport et stockage de l'oxygène :

hémoglobine (vertébrés)
myoglobine (vertébrés) ;

2° transport des électrons (réactions d'oxydoréduction) :

cytochromes (microorganismes, plantes, animaux)
ferrédoxines (bactéries, plantes)
rubrédoxines (bactéries)
hydrogénases (bactéries), etc. ;

3° transport et stockage du fer :

transferrines (sang)
ferritines (tissus, plantes)
hydroxamates (bactéries, levures).

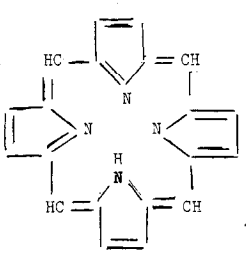
Nous ne citerons là que trois groupes de réactions essentielles, en laissant de côté un certain nombre de réactions catalytiques que nous n'examinerons pas.

QUELQUES CARACTERISTIQUES DES MOLECULES BIOLOGIQUES CONTENANT DU FER [3, 4].

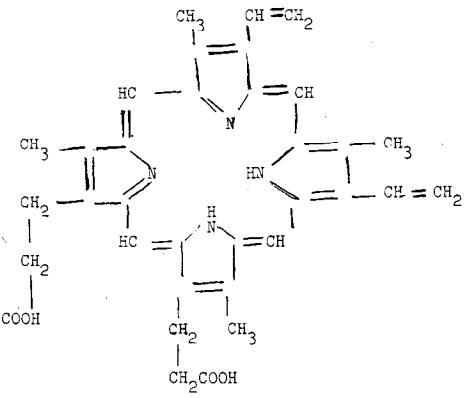
1. Hémoglobine.

Cette molécule comporte une partie protéique et des porphyrines chélatant le fer.

Rappelons que les porphyrines sont des molécules cycliques formées de quatre anneaux pyrolliques reliés entre eux par des ponts méthyléniques. Les porphyrines dérivent de la porphine :



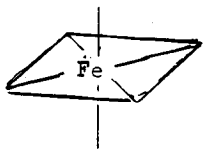
porphine



protoporphyrine IX

Fig. 1

Ce type de molécules est capable, par l'intermédiaire des quatre atomes d'azote, de chélater solidement le fer en conduisant à un complexe plan carré. Il existe encore deux liaisons axiales disponibles sur l'atome de fer qui est ainsi hexacoordiné.



L'hémoglobine peut s'unir à l'oxygène de façon réversible et sert ainsi au transport de l'oxygène dans le sang. Sa masse moléculaire est d'environ 65000. Elle contient quatre fer Fe(III) par molécule.

2. **Myoglobine.**

Il s'agit aussi d'une protéine porphyrinique contenant du fer. Comme l'hémoglobine, elle peut subir réversiblement des réactions d'oxygénation $\rightleftarrows$ désoxygénation. Sur le plan structural et fonctionnel, elle est proche de l'hémoglobine. Sa masse moléculaire est d'environ 17000.

Elle sert non seulement au stockage de l'oxygène (elle est présente en grande quantité, par exemple, dans les mammifères marins), mais encore elle permet d'augmenter la vitesse de diffusion de ce gaz à travers les cellules.

3. **Transporteurs d'électrons : cytochromes ; ferrédoxines.**

Parmi les nombreux transporteurs d'électrons connus et contenant du fer, nous ne parlerons ici que de deux groupes : les cytochromes et les ferrédoxines.

3.1. Cytochromes.

En ce qui concerne le mode de chélation du fer, il s'apparente de très près à celui observé dans l'hémoglobine et la myoglobine. Le « centre actif », c'est-à-dire la région de la molécule où s'effectuent les échanges électroniques est constitué en principe par un complexe fer-protoporphyrine, par exemple, pour le cytochrome C, les ligands axiaux du fer étant alors deux acides aminés faisant partie de la chaîne polypeptidique.

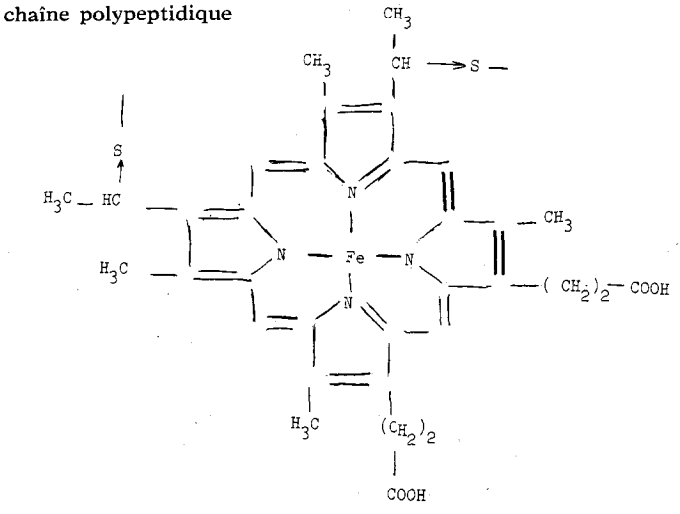


Fig. 2

Lors des réactions d'oxydoréduction, le fer accepte ou cède un électron :

$$\text{Fe (III)} \underset{-e}{\overset{+e}{\rightleftarrows}} \text{Fe (II)}.$$

Les cytochromes possèdent la propriété intéressante d'avoir un spectre d'absorption différent à l'état oxydé et à l'état réduit (fig. 3 et tableau) :

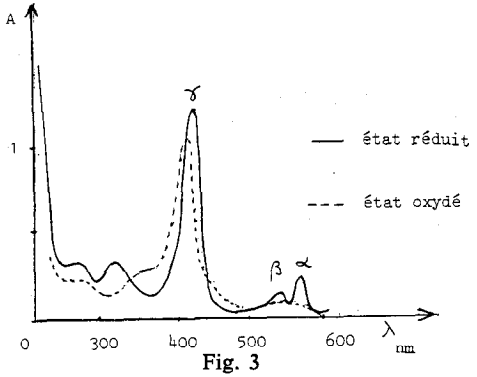


Fig. 3

protéine	maximum d'absorption de la forme réduite (nm)		
	α	β	γ Soret
cytochrome *c*	550	521	415
cytochrome *b*	560	530	430

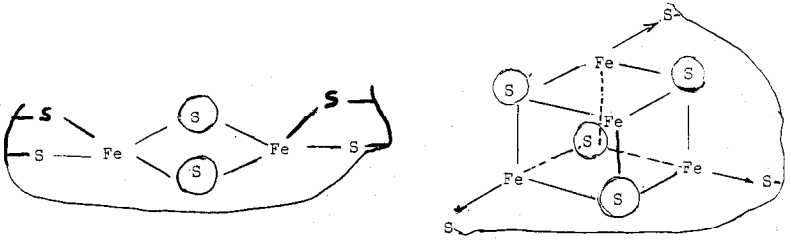
Cette propriété peut être mise en évidence simplement à partir, par exemple, de cytochrome *c* (acheté dans le commerce) auquel on ajoute un excès de réducteur (dithionite de sodium par exemple). Un changement de coloration, du rouge orangé au rose saumon, accompagne la modification spectrale.

La bande de Soret (γ) représente l'excitation des électrons π délocalisés vers les niveaux inoccupés de l'anneau porphyrinique.

Ces molécules jouent un rôle prépondérant dans la chaîne de transporteurs capable de transférer les électrons depuis les molécules de substrat vers l'oxygène moléculaire (chaîne respiratoire).

3.2. FERRÉDOXINES.

Il s'agit d'une autre famille de protéines à fer, de structure assez originale car ces molécules contiennent en outre du soufre dit « minéral » ou « labile ». On les rencontre chez les bactéries mais aussi dans les végétaux supérieurs (épinards par exemple) où elles participent aux échanges d'électrons liés à la photosynthèse. Elles peuvent contenir 2 ou 4 atomes de fer (fig. 4) rattachés à la protéine par des atomes de soufre cystéiniques :



chaîne polypeptidique (centre [2 Fe — 2 S])

chaîne polypeptidique (centre [4 Fe — 4 S])

Fig. 4

Les atomes de soufre « minéral labile » (encerclé sur la fig. 4) servent de ponts entre les atomes de fer.

Ces protéines fonctionnent comme transporteurs d'électrons grâce à la transition $\mathrm{Fe(III)} \underset{-e}{\overset{+e}{\rightleftarrows}} \mathrm{Fe(II)}$.

4. **Les transferrines** [5].

Il s'agit d'une famille de protéines comportant une seule chaîne polypeptidique (M ~ 80000) et deux sites de fixation. Pour chaque ion ferrique lié à un site spécifique, un anion carbonate ou hydrogénocarbonate est fixé sur un autre site. Le fer se lierait

à des tyrosines et peut-être à des histidines. Quant à l'anion, il se fixerait sur des lysines ou des arginines positivement chargées.

Quand on met une molécule de transferrine en présence d'un sel ferrique, l'hydrolyse du sel et la formation de complexes polynucléaires ont lieu. Par contre, la fixation du fer sur la transferrine est obtenue plus facilement avec un chélate de fer(III) (par exemple le nitrilotriacétate de fer(III) ou un sel ferreux en présence d'un excès d'hydrogénocarbonate).

La restitution du fer *in vitro* a lieu en abaissant le pH, en présence de séquestrant. Par contre, plusieurs modes de restitution peuvent être envisagés *in vivo* : protonation des coordinats du fer protéique ; chélation par échange de coordinats ; réduction : Fe(III) → Fe(II), (la complexation du fer ferreux par les transferrines étant faible) ; attaque au niveau de l'anion.

Toutefois, on connaît assez mal le processus de transfert du fer de la transferrine vers les sites d'utilisation en milieu vivant.

5. **Les ferritines** [5].

Le stockage du fer est assuré par les ferritines qui sont, elles aussi, des protéines (le foie des mammifères est particulièrement riche en ferritine). Ces molécules possèdent une cavité centrale dans laquelle s'effectue la séquestration du fer. Chaque molécule de ferritine peut contenir au moins 2 500 atomes de fer, sous forme de polymères ou de micelles.

ASPECT APPLIQUE.

Nous avons examiné un certain nombre de molécules où le fer apparaît comme vraiment emprisonné par les coordinats qui l'entourent. Du fait de son environnement, il peut fonctionner dans des réactions très spécifiques, d'oxydoréduction, de capture de l'oxygène par exemple.

Il semble que trois types de liaisons privilégiées soient rencontrées dans le cas des molécules biologiques : Fe-N, Fe-S, Fe-O, la liaison Fe-S des ferrédoxines constituant un exemple particulièrement original.

A côté des molécules assez complexes examinées précédemment, il existe plusieurs molécules d'intérêt biologique beaucoup plus simples qui sont susceptibles d'être, elles aussi, de bons agents complexants du fer. Nous considérerons, à titre d'application, le cas de la complexation du fer par les acides hydroxamiques, exemple qui peut conduire à des manipulations faciles à mettre en œuvre avec du matériel de laboratoire courant.

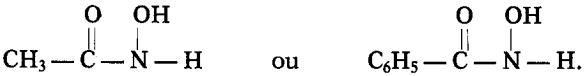
Exposé du problème.

Les complexes fer-hydroxamate sont présents dans les milieux vivants [6]. Ils constitueraient des composés modèles de plusieurs antibiotiques.

Les acides hydroxamiques ont pour formule générale :

(ou $-CH_3$).

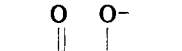
On trouve dans le commerce l'acide acéto- ou benzo-hydroxamique :



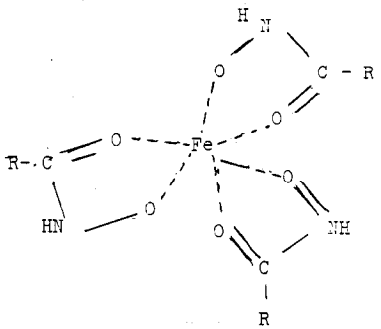
Le pK de ces acides est voisin de 9.

La formation des complexes fer-hydroxamate s'effectue par étape, suivant les réactions :

$$L^- + Fe^{3+}_{aq} \rightleftarrows FeL^{2+}$$
$$L^- + FeL^{2+} \rightleftarrows FeL^{2+}$$
$$L^- + FeL_2^+ \rightleftarrows FeL_3$$

(L⁻ symbolisant l'anion hydroxanate : ).

La structure du chélate 1 : 3 est :



Ce chélate est particulièrement stable (constante de formation à 20°C : $\log \beta_3 = 28{,}3$) [7]. Par contre, le complexe ferreux est beaucoup moins stable ($\log \beta_2 = 8{,}5$ d'après [7]).

Le fer (II) est donc moins solidement lié, ce qui tendrait à prouver qu'en milieu vivant les complexes hydroxamiques ne sont pas impliqués dans des réactions d'oxydoréduction.

Il apparaît que le nombre d'anions hydroxamate liés au fer (III) dépend beaucoup du pH, ce qui a une grande influence sur le spectre d'absorption des solutions. Vers pH 1-2, la formation du complexe 1 : 1 est favorisée (apparition d'une couleur pourpre, $\lambda_{max} \sim 510$ nm). Aux pH neutres, c'est le complexe 1 : 3 qui est favorisé (apparition d'une couleur jaune ou orange suivant la concentration, $\lambda_{max} \sim 430$ nm) (voir fig. 5).

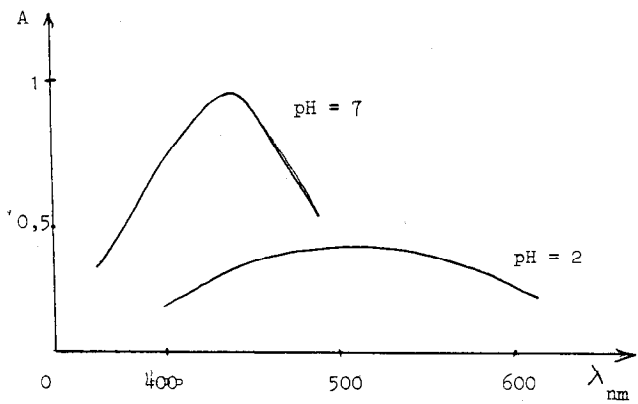


Fig. 5. — Spectres d'absorption de l'acétahydroxamate de fer (III) à pH 2 et 7 (d'après [6]).

Ces quelques propriétés des complexes fer-hydroxamate semblent assez faciles à mettre en évidence expérimentalement :

a) par titrage potentiométrique (abaissement du pH par formation de complexes),

b) par spectrophotométrie (modification du spectre d'absorption) avec changement de couleur de la solution.

CONCLUSION.

Le fer constitue 4,7 % de la lithosphère, c'est le métal le plus abondamment répandu après l'aluminium. Sa concentration dans l'eau de mer est de 10^{-6} à 10^{-7} moles par litre, une valeur qu'on peut considérer comme trop faible pour être conciliable avec les vitesses de croissance maximales des micro-organismes aérobies. Le fer étant aussi présent couramment dans les météorites, on peut penser qu'il est distribué universellement dans le système solaire.

Si l'on admet que l'atmosphère primitive de la Terre était constituée de vapeur d'eau, de méthane, d'ammoniac et d'hydro-

gène, il est probable que le fer se trouvait alors à l'état réduit. Sous l'action des radiations, une « évolution chimique » s'est produite. Si on chiffre à environ $5 \cdot 10^9$ années l'âge de la Terre, et à quelques billions d'années la phase anaérobie, on peut penser que les systèmes complexants, destinés à rendre le fer disponible pour les besoins de la vie, ont dû se constituer pendant les millénaires correspondant à l'évolution anaérobie, ceci afin de permettre au couple Fe (II)/Fe (III) d'être à même de participer aux transferts électroniques [1].

Suivant la nature de l'agent complexant, le potentiel d'oxydoréduction du couple Fe (II)/Fe (III) peut varier sur une grande échelle de potentiel, ce qui est un caractère marquant des complexes d'intérêt biologique du fer.

BIBLIOGRAPHIE

[1] J.-B. NEILANDS. — *Structure and Bonding*, 1972, 11, 145-170.

[2] T.-G. SPIRO et P. SALTMAN. — *Structure and Bonding*, 1969, 6, 116-156.

[3] H.-A. HARPER. — *Précis de Biochimie*, 1973, Armand Colin, Paris.

[4] A.-L. LEHNINGER. — *Biochimie*, 1977, Flammarion, Paris.

[5] P. AISEN et J. LISTOWSKY. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1980, 49, 357-593.

[6] J.-B. NEILANDS. — *Structure and Bonding*, 1966, 1, 59-108.

[7] G. SCHWARZENBACH et K. SCHWARZENBACH. — *Hel. Chim. Acta*, 1963, 46, 1390-1400.