

L'utilisation des chélateurs et complexes de cuivre en biologie et en médecine

Résumé Le cuivre est essentiel pour la plupart des êtres vivants et existe principalement dans les deux états d'oxydation Cu(I) et Cu(II). Les complexes Cu-ligand exogènes (Cu-L) ou les chélateurs capables de former des Cu-L avec le cuivre endogène sont intéressants comme outils biologiques et comme approche thérapeutique dans les maladies liées ou non au cuivre. Certains aspects fondamentaux de la chimie du cuivre en biologie sont traités ici, notamment la stabilité du complexe Cu-L en milieu biologique et son activité redox potentielle, principalement en termes d'activation du dioxygène. Enfin, l'antagonisme récemment découvert entre la stabilité et l'activation efficace du dioxygène est discuté.

Mots-clés Chimie bioinorganique, cuivre, oxydo-réduction, activation du dioxygène, thiols.

Abstract The use of copper chelators and complexes in biology and medicine

Copper is essential for most living beings and exist mainly in the two redox states Cu(I) and Cu(II). Exogenous Cu-ligand complexes (Cu-L) or chelators able to form Cu-L with endogenous Cu are of interest as biological tools and as therapeutically approach in copper related or unrelated diseases. Here some basic aspect of Cu-chemistry in biology are treated, including the stability of Cu-L in biological medium and its potential redox activity mainly in terms of dioxygen activation. Finally, the recently found antagonism between stability and efficient dioxygen activation is discussed.

Keywords Bioinorganic chemistry, copper, redox, dioxygen activation, thiols.

L'aire de jeux : le cuivre en biologie

Le cuivre est un oligo-élément essentiel pour la plupart des organismes. Son rôle principal est de servir de centre catalytique dans les enzymes, notamment en changeant d'état d'oxydation entre Cu(I) et Cu(II). Pour insérer correctement le cuivre dans les enzymes, plusieurs transporteurs sont nécessaires, incluant l'absorption, le transfert et l'excrétion à plusieurs niveaux (cellules, corps entier, etc.). Ces transporteurs sont également des protéines. Par conséquent, le cuivre est, du moins dans des conditions saines, presque exclusivement lié à des chaînes polypeptidiques, et le transfert d'une protéine à l'autre se fait par un mécanisme associatif, de sorte que, généralement, les ions cuivre ne sont jamais présents « libres », c'est-à-dire sous forme d'aquo-complexe [1-2].

Il s'agit d'une caractéristique générale des cations métalliques essentiels du bloc d, car les concentrations des ligands, des petits acides aminés aux protéines entières, sont beaucoup plus élevées que celles de ces ions métalliques. Cela permet également de contrôler la chimie de ces ions par coordination, ce qui est d'une grande importance pour le cuivre, car le complexe Cu-aquo ou le cuivre dit « lâchement lié » (par exemple lié à des acides aminés) est très efficace dans la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (comme $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , HO^{\cdot}) en présence d'agent réducteur (par ex. vitamine C) et de dioxygène [2].

Le cuivre chez l'homme

Le cuivre est un site catalytique dans des enzymes comme la cytochrome c oxydase, dernier complexe de la chaîne respiratoire, ou dans la superoxyde dismutase Cu/Zn (SOD1 et 3), une enzyme qui maintient la concentration de $O_2^{\cdot-}$ sous contrôle. Ici, le cuivre oscille entre Cu(I) et Cu(II). Une caractéristique générale est que le cuivre est principalement présent sous forme de Cu(II) au niveau extracellulaire, comme dans le sang,

qui est plus oxydant. Mais au niveau intracellulaire, en raison de la forte concentration de thiols, le Cu(II) serait immédiatement réduit en Cu(I), et de fait, à part le Cu(II) généré pendant le cycle redox dans les enzymes, le cuivre est essentiellement présent sous forme de Cu(I) – aucune preuve tangible de la présence de Cu(III) n'a été rapportée jusqu'à présent, mais si elle existe, elle est probablement limitée à un état transitoire dans la catalyse [3].

Le principal transporteur transmembranaire qui importe le cuivre est le CTR1 (« copper transporter 1 »), dont il est établi qu'il est un transporteur de Cu(I). Le CTR1 des entérocytes de l'intestin est responsable de l'absorption du cuivre de la nourriture, présent sous forme de Cu(I) et de Cu(II). Ce dernier doit d'abord être réduit pour pouvoir être absorbé par CTR1. L'arrivée du Cu(I) au niveau intracellulaire dans les entérocytes est prise en charge par un chaperon de Cu(I) (c'est-à-dire des navettes) qui amène le Cu(I) aux enzymes cibles ou à un autre transporteur transmembranaire de Cu(I), l'ATP7A. Cet ATP7A transporte le Cu(I) vers le sang où il est oxydé par un mécanisme inconnu et lié principalement à l'albumine sérique humaine (HSA) sous forme de Cu(II). Les cellules de l'organisme peuvent alors absorber le cuivre de l'albumine sérique humaine, toujours par l'intermédiaire de CTR1, après une réduction probablement induite par une réductase. Pour extraire le cuivre de l'organisme, le transporteur transmembranaire de Cu(I) ATP7B peut excréter le Cu(I) intracellulaire de la cellule hépatique vers la bile [3].

Maladies liées au cuivre

- *La maladie de Wilson (MW)* : il s'agit d'une maladie génétique due à des mutations du transporteur ATP7B qui entraînent son dysfonctionnement. En conséquence, le cuivre ne peut être excrété par la bile et s'accumule lentement dans l'organisme. Si elle n'est pas traitée, cette maladie est mortelle à un jeune âge [4].

	Cu(I)	Cu(II)
Géométrie préférée	Digonal, trigonal, tétraédrique ou penta-coordonné	Plan carré, avec un ou deux ligands axiaux plus faibles
Ligands biologiques préférés	Thiolates > thioéther, amines > oxygène	Amines, soufre > oxygène
Stabilité en milieu aérobie	Facilement oxydable	Stable
Stabilité dans l'eau (pH 7)	Pas stable (disproportionation)	Stable
Solubilité dans l'eau	$K_5^{\text{CuOH}} = 2 \cdot 10^{-15}$	$K_5^{\text{Cu(OH)}}_2 = 2,5 \times 10^{-19}$
Interaction avec les thiols	Peut se lier fortement aux thiols Pas de disproportionation disperse plus Oxydation lente par O ₂	Est réduit en Cu(I) par les thiols
Affinités typiques du Cu à pH 7,4 des protéines qui sont présentes sans Cu, et donc capables de lier le Cu provenant du Cu-L ajouté	Cytosol et noyau log Kd' - 16 to - 20 Cu « libre » calculé dans les bactéries 10 ⁻²¹ M	HSA dans le sang log Kd' - 13 Cu « libre » calculé dans le sang 10 ⁻¹⁵ M

Tableau I - Chimie de coordination du cuivre.

Classe	État redox préféré	Potentiel redox	Extracellulaire/périplasma	Intracellulaire (haute teneur en thiols)	Dissociation du Cu du ligand intracellulaire	Exemples	Applications
A	Cu(II)-L	Très bas < - 0,3 ?	Stable (si log Kd' ^a < - 14 pour Cu(II))	Pas de réduction ou très lente > 10 ⁵ s	Pas de relargage ou très lente	Cu(II)-at-sm	MW, MA, cancer
B	Cu(II)-L	Bas ~ -0,3 - -0,1	Stable (si log Kd' < - 14 pour Cu(II))	Réduction lente (10 ^{3/5} s)	Libération lente de Cu(I)	Cu(II)-gt-sm	MM, MA, bactérie
C	Cu(I/II)-L	~ 0 - 0,3	Que stable si log Kd' de Cu(II) ET Cu(I) bas	Réduction rapide de Cu(II)	Libération rapide de Cu(I)	Cu(II)-Phen ₂	Cancer, bactérie
D	Cu(I)-L	Haut > 0,5	Stable	Stable si log Kd' < -17 à 20	Stable si Kd' très bas, sinon relargage	MoS ₄ ²⁻ BC et BCS	MW, cancer

Tableau II - Classification des complexes Cu-L bioactifs.

^aLog Kd' : constante de dissociation (Kd) à pH 7,4.

- le potentiel redox du Cu(I/II) dépend fortement de la géométrie de coordination et du type de ligand, le potentiel redox peut donc être réglé sur une large gamme.

Classes de Cu-L

À partir de la chimie de coordination discutée ci-dessus et pour la suite de la discussion, nous pouvons classer les complexes Cu-L bioactifs en quatre classes, A-D (tableau II). Il s'agit d'une classification artificielle et les frontières ne sont pas clairement définies car les propriétés changent progressivement (« incrémentales »). Elle est principalement basée sur le potentiel redox, à savoir quel état redox du cuivre est le plus stabilisé et la réactivité face à une concentration élevée de thiols (comme on en trouve dans les cytosols). La classification est censée faciliter la rationalisation des différentes applications.

Denticité

En raison de l'effet chélate, l'affinité augmente généralement avec la denticité du ligand et avec le cycle de chélation (les cycles à cinq et six chaînons, incluant le métal, sont préférés). Comme les affinités de Cu(I) et Cu(II) des protéines dans les systèmes biologiques sont assez élevées (voir tableau I),

des ligands de plus grande denticité sont nécessaires pour être compétitifs. Les ligands monodentés se dissocient classiquement aux concentrations biologiques pertinentes (voir tableau III).

Chélateurs

L'intérêt pour les chélateurs du cuivre est multiple. L'idée est que le chélateur lie le cation métallique dans le système biologique et effectue ensuite l'action souhaitée. L'action recherchée peut être l'excrétion de cuivre dans la maladie de Wilson (MW), la privation de cuivre dans le cancer, ou la captation du cuivre extracellulaire et son transport intracellulaire où il est libéré.

Dans tous les cas, la question de la sélectivité se pose, c'est-à-dire que le chélateur ne cible que le cuivre et non les autres ions métalliques essentiels, principalement le Zn(II), le Fe(II/III), etc. La question du ciblage de Cu(I) ou Cu(II) est également cruciale en raison de leur chimie de coordination différente, et donc de la conception appropriée du chélateur.

On peut citer l'exemple de la triéthylènetétramine (également appelée TETA, trientine ou triène), un ligand bien adapté au Cu(II) car il répond au type de ligand préféré (azote), à la géométrie (plan carré) et possède des cycles de coordination

		Exemples	Affinité	Échange de(s) ligand(s)	Stabilité dans le milieu biologique (plasma, cytosol, etc.)
Monodentate			Bas	Rapide	Dissociation presque complète
Bidentate	1:1 et 1:2	Phen			Souvent dissociation d'au moins un ligand Un complexe ternaire peut être formé
Tridentate	1:1 1:2 ou un ligand externe	PyTSC			Les ligands les plus forts peuvent être stables
Tétradentate/ou plus	Souvent sphère de coordination saturée	bisTSC			Souvent stable
			Haut	Lente	

Tableau III - Classification des ligands.

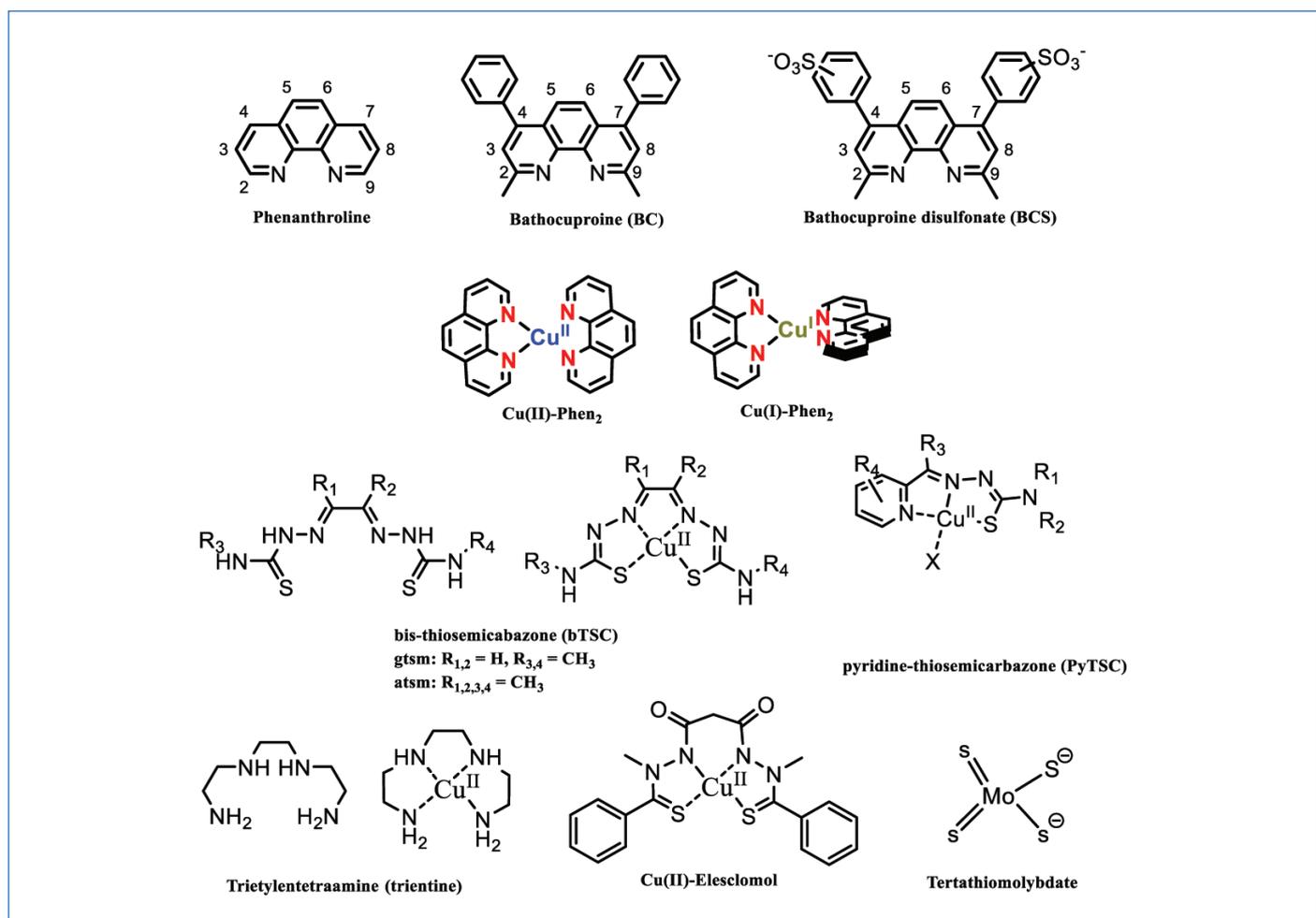


Figure 2 - Ligands discutés et complexes Cu-L.

à cinq chaînons favorisés (tableau I et figure 2). L'inadaptation aux autres ions métalliques présents, en particulier Zn(II), est tout aussi importante pour la sélectivité. Zn(II) préfère le tétraèdre dans un complexe de coordinance 4. En effet, la trientine présente une forte sélectivité pour Cu(II) par rapport à Zn(II) ou Fe(III), les métaux de bloc d les plus abondants aux endroits les plus oxydants chez l'homme. Cependant, dans les organismes où le nickel est un métal essentiel, la sélectivité devient plus difficile, car Ni(II) peut aussi adopter favorablement une géométrie plan carré. La liaison sélective de Cu(I) semble se produire pour MoS₄²⁻.

- *Maladie de Wilson (MW)* : des chélateurs puissants (Cu(I) ou Cu(II)) sont nécessaires pour lier l'excès de cuivre car l'affinité de l'élément pour des biomolécules, comme le glutathion (GSH) ou l'albumine sérique humaine, même à des concentrations de l'ordre du millimolaire, est forte. De plus, les composés ne doivent pas être redox actifs car ils pourraient produire des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les classes A ou D du tableau II semblent être les plus appropriées. Une évacuation efficace du corps est également nécessaire.

- *Maladie d'Alzheimer (MA)* : dans la MA, l'approche consiste souvent à éliminer le Cu(II) de l'amyloïde- β de manière

sélective, pour former un complexe extracellulaire stable sans activité redox afin d'éviter les ROS. Le complexe doit ensuite passer la membrane vers le cytosol et être réduit par la forte teneur en thiol, du Cu(II) en Cu(I), qui est ensuite libéré. Ce sont les caractéristiques classiques des complexes de la classe B, et un exemple de ces chélateurs est le ligand gtsm (tableau II). La classe A pourrait être utile en raison de leur libération très lente. Les composés de classe D (chélateurs forts de Cu(I)) sont également étudiés, sur la base du raisonnement selon lequel il se peut que le Cu(I) soit également lié à l'amyloïde- β , au moins pendant le cycle redox conduisant aux ROS.

- *Cancer* : des stratégies consistent à séquestrer le cuivre intra- ou extracellulaire avec des chélateurs de Cu(I) ou Cu(II) très puissants et sélectifs. Il peut être intéressant de noter que les complexes Cu-L formés dans les cellules cancéreuses ou à proximité sont redox actifs et produisent des ROS pour tuer les cellules cancéreuses. Par conséquent, toutes les classes peuvent être utiles, tant que la sélectivité des composés du cuivre pour les cellules cancéreuses par rapport aux cellules saines est élevée.

- *Capteurs pour Cu(I) et Cu(II)* : la détection des changements dans les concentrations de cuivre est un outil très approprié pour comprendre le métabolisme de cet élément. Comme les concentrations de cuivre sont relativement faibles, la luminescence (fluorescence ou phosphorescence) est souvent utilisée pour la détection en raison de sa grande sensibilité. De tels capteurs nécessitent plusieurs propriétés dont les plus importantes sont la sélectivité pour le Cu(I) ou le Cu(II), une affinité pour entrer en compétition avec les molécules natives de liaison au cuivre, et une cinétique suffisamment rapide. Il s'agit donc classiquement de la classe A pour Cu(II) et de la classe D pour Cu(I), avec une forte affinité (le plus souvent 4 ou plus) pour être compétitif [8].

Complexes de Cu (Cu-L)

- *Maladie de Menkes (MM)* : l'objectif des travaux menés sur la maladie de Menkes est d'amener le cuivre dans les organes, et plus précisément dans les cellules et leurs compartiments (réticulum endoplasmique ou mitochondries). On recherche donc un Cu(II)-L perméable à la membrane, qui soit stable dans le sang (pas de dissociation ou de transmétallation) et qui ne libère que lentement le Cu(I) en intracellulaire. Les composés de la classe B semblent les plus adaptés et en effet, l'élesclomol, un chélateur de ce type, a montré des résultats prometteurs chez des souris modèles [9].

- *Cancer* : les complexes de cuivre qui montrent une sélectivité contre le cancer sont souvent conçus pour activer l'O₂ afin de produire des ROS et/ou de dégrader l'ADN/ARN, les protéines... Le processus se fait en général via un mécanisme redox actif (activation de l'O₂) et non par hydrolyse. Ce sont les caractéristiques des composés de classe C.

- *Bactéries* : les composés classiques sont les classes B perméables aux cellules, qui conduisent à l'accumulation de cuivre intracellulaire. La classe C est également utilisée, mais la contribution de l'activité redox n'est pas claire. Il semble que la production directe de ROS cytosolique ne soit pas un mécanisme majeur et que l'agrégation de protéines induite par le cuivre soit importante [10]. La production de ROS pourrait être encore le cas dans le périplasme dans des conditions aérobies. Contrairement aux applications dans les maladies humaines, où la libération lente de cuivre peut être un avantage, dans les bactéries, il semble qu'une libération trop lente ne soit pas souhaitée, car le Cu-L peut être expulsé

plus rapidement. C'est le cas de Cu-atsm (classe A), qui est moins toxique que Cu-gtsm (classe B).

Les interdits de l'aire de jeux : incompatibilité entre l'activité redox et la stabilité ?

Nos travaux plus récents suggèrent qu'il y a une incompatibilité entre le fait d'avoir un complexe Cu-L efficace pour l'activation redox du dioxygène d'une part et la stabilité contre la dissociation d'autre part [10]. C'est certainement un problème à résoudre dans le cytosol ou le noyau riches en thiols. Il est possible de fabriquer des Cu-L stables qui résistent à la dissociation par les thiols. Ils doivent appartenir soit à la classe A, c'est-à-dire qu'ils stabilisent tellement l'état Cu(II) que les thiols ne sont pas capables de le réduire, soit à la classe D, et dans ce cas, ils ont une affinité au Cu(I) supérieure aux protéines capables de lier facilement le Cu(I) (chaperons ou métallothionéines). Cette affinité peut être mesurée par la constante de dissociation, K_d' , qui permet d'évaluer et de hiérarchiser la force des interactions entre biomolécules, ici estimée à $\log K_d'$ de -16 à -20 (à pH 7,4).

Mais ce sont les complexes Cu-L de classe C qui sont, de par leurs propriétés redox actives, des activateurs de dioxygène efficaces. Cette classe évolue facilement entre les états redox, car la coordination est adaptée aux deux degrés d'oxydation, Cu(I) et Cu(II). Mais cela a un prix à payer, car la chimie de coordination est tellement différente pour Cu(I) et Cu(II) que cette coordination est un compromis, et donc les affinités sont plus faibles pour chaque état redox par rapport aux ligands optimisés pour un seul état⁽¹⁾. Or plusieurs protéines sont tout à fait optimisées pour la liaison de Cu(I) dans le cytosol. En conclusion, parce qu'elles peuvent effectuer un cycle redox efficace, les classes C sont rapidement réduites en Cu(I), puis le Cu(I) est transféré aux protéines de plus haute affinité (chaperons ou métallothionéines) [10].

Au niveau extracellulaire, la compétition se situe au niveau du Cu(II), et les protéines se liant facilement au Cu(II) (albumine sérique humaine, HSA), elles ont une affinité plus faible par rapport à l'intracellulaire ($\log K_d' \sim 13$). Il devrait donc être plus facile d'obtenir un complexe Cu-L redox actif efficace, mais cela reste un défi. L'une des raisons est la concentration très élevée ($\sim 0,6$ mM) de HSA dans le sang [8].

Existe-t-il une solution ? L'une d'elles consiste à regarder comment la nature s'y prend. Par exemple, la superoxyde dismutase Cu/Zn, SOD1 est une enzyme à cuivre redox active, présente dans le cytosol au niveau intracellulaire. La clé ici est l'inertie du composé Cu-L. Le cuivre est incorporé pendant le repliement et, une fois le repliement terminé, la structure de la protéine est encore stabilisée par une liaison disulfure. De plus, le substrat O₂⁻ est très petit et il n'y a qu'un canal étroit pour que le substrat atteigne le site du cuivre. Cela entrave l'approche de concurrents pour la fixation du cuivre, tels que les thiols ou les protéines. Comme indiqué ci-dessus, le transfert de cuivre entre molécules biologiques fonctionne via un mécanisme associatif. Une solution serait donc de fabriquer des complexes Cu-L très encombrés stériquement, mais cela pourrait n'être valable que pour de très petits substrats.

Une autre solution pourrait être de trouver un compromis entre la stabilité et l'activité, c'est-à-dire un complexe de cuivre qui n'est que légèrement actif du point de vue redox (par exemple, de classe B et non C), mais qui présente une stabilité suffisante contre la dissociation [11]. Une activité plus faible peut être suffisante à l'échelle du temps biologique,

en particulier lorsque l'activité redox est exercée dans le bon compartiment et/ou la bonne molécule cible. Une telle solution nécessite une localisation précise et/ou une interaction sélective avec la cible recherchée (par exemple, la peroxydation des lipides insaturés dans les membranes).

En conclusion, une meilleure compréhension de la chimie de coordination du cuivre, du rôle des chélateurs et des processus d'oxydo-réduction, en considérant la richesse des milieux biologiques notamment en thiol, est essentielle pour concevoir de nouvelles molécules dont les propriétés thérapeutiques devraient se révéler fructueuses pour essayer de traiter efficacement des pathologies lourdes et complexes.

L'auteur remercie tous les collaborateurs actuels et anciens, les membres du groupe, les étudiants et les collègues pour toutes les interactions, l'aide et les collaborations sans lesquelles l'article n'aurait pas été possible, ainsi que les agences de financement (icFRC, IDEX Strasbourg, ANR, USIAS).

⁽¹⁾ Le compromis dans Phen (phénanthroline) est basé sur le fait que ce ligand est seulement bidentate. Ainsi la complexation par deux Phen permet l'adaptation à Cu(I) et Cu(II) (figure 2) par un mouvement de deux Phen entre les deux géométries. Mais l'effet chélate est beaucoup plus faible comparé à un ligand avec une denticité supérieure, et donc ces complexes se dissocient souvent (au moins un Phen) dans des systèmes biologiques. Les ligands tétradentés profiteraient pleinement de l'effet chélate, mais la géométrie devrait être un compromis (entre plan carré et tétraédrique), ce qui diminue l'affinité par rapport à une géométrie optimisée (une géométrie de compromis est trouvée dans les cupredoxines/centres Cu de type I. Ces complexes sont stables contre la dissociation, car une protéine entière contribue à stabiliser la liaison Cu sur le plan thermodynamique et cinétique.

[1] S. Lutsenko, Copper trafficking to the secretory pathway, *Metalomics*, **2016**, 8, p. 840-852.
[2] M.T. Maung *et al.*, The molecular and cellular basis of copper dysregulation and its relationship with human pathologies, *FASEB J.*, **2021**, 35 p. 1-50.

[3] B.-E. Kim, T. Nevitt, D.J. Thiele, Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation, *Nat. Chem. Biol.*, **2008**, 4, p. 176-185.

[4] P. Delangle, E. Mintz, Chelation therapy in Wilson's disease: from d-penicillamine to the design of selective bioinspired intracellular Cu(I) chelators, *Dalt. Trans.*, **2012**, 41, p. 6359-70.

[5] E. Atrián-Blasco *et al.*, Cu and Zn coordination to amyloid peptides: from fascinating chemistry to debated pathological relevance, *Coord. Chem. Rev.*, **2018**, 371, p. 38-55.

[6] D. Denoyer, S. Masaldan, S. La Fontaine, M.A. Cater, Targeting copper in cancer therapy: 'Copper That Cancer', *Metalomics*, **2015**, 7, p. 1459-76.

[7] A. Giachino, K.J. Waldron, Copper tolerance in bacteria requires the activation of multiple accessory pathways, *Mol. Microbiol.*, **2020**, 114, p. 377-390.

[8] E. Falcone *et al.*, Extracellular Cu²⁺ pools and their detection: from current knowledge to next-generation probes, *Coord. Chem. Rev.*, **2021**, 433, p. 213727.

[9] L.M. Guthrie *et al.*, Elesclomol alleviates Menkes pathology and mortality by escorting Cu to cuproenzymes in mice, *Science*, **2020**, 368, p. 620-625.

[10] A. Santoro *et al.*, The glutathione/metallothionein system challenges the design of efficient O₂-activating copper complexes, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2020**, 59, p. 7830-35.

[11] E. Falcone *et al.*, Copper-catalyzed glutathione oxidation is accelerated by the anticancer thiosemicarbazone Dp44mT and further boosted at lower pH, *J. Am. Chem. Soc.*, **2022**, 144, p. 14758-768.

Peter FALLER,

Professeur de chimie, responsable de l'équipe « Biométaux et chimie biologique » à l'Institut de chimie (UMR 7177), Université de Strasbourg/CNRS.



Peter FALLER a reçu le prix Chercheur confirmé 2021 de la division SCF Chimie de coordination.

* pfaller@unistra.fr

WILEY-VCH

Chemistry
Europe

Your research is important
and needs to be shared with the world

Articles published open access have higher readership
Articles are cited more often than comparable subscription-based articles
All articles freely available to read, download and share.

Submit your paper today.

www.chemistry-europe.org