

# La toxicochimie inorganique

Philippe Baudot\* maître de conférences, Michel Boisset\*\* ingénieur,  
Henri Pézerat\*\*\* directeur de recherche, André Picot\*\*\*\* directeur de recherche

## The inorganic toxicochemistry

Inorganic toxicochemistry is situated at the border-line between inorganic chemistry and toxicology.

This science deals with a molecular approach of toxicity, which allow a predictive assessment of toxicity for some inorganic compounds.

This is achieved by means of both the theoretical contribution of inorganic chemistry (acid-base theory according to Brönstedt or Lewis, monoelectronic transfers) and that of molecular toxicology.

In this publication, a special emphasis is laid on the hard-and-soft concept of Pearson and the monoelectronic transfers which interfere with the activation of dioxygen into reactive species. Some examples are also presented.

*Toxicochimie inorganique, concept dur-mou, transferts monoélectroniques, toxicologie moléculaire, agression oxydante*

*Inorganic chemistry, hard-soft concept, monoelectronic transfers, molecular toxicology, oxidative stress*

La toxicochimie en tant que discipline frontière permettant une approche moléculaire à caractère prévisionnel de la toxicité d'un produit chimique a été définie par A. Picot dans un précédent article consacré à la toxicochimie des composés organiques [1].

Discipline à l'interface de la chimie et de la toxicologie, la toxicochimie contribue à une meilleure compréhension des mécanismes d'action des xénobiotiques toxiques. Grâce aux apports des théories récentes de la chimie, elle vise à comprendre, voire à prédire dans

certains cas favorables, et surtout à prévenir les effets néfastes des xénobiotiques tant sur la santé des humains qu'au niveau des écosystèmes.

Globalement, toute approche en toxicochimie inorganique doit prendre en compte les concepts de la chimie :

- l'acido-basicité au sens de Brönstedt,
- l'acido-basicité selon Lewis (accepteur ou donneur d'une paire d'électrons),
- les transferts monoélectroniques (accepteur ou donneur d'un électron).

Ainsi, le caractère acido-basique au sens de Lewis permet de comprendre les interactions entre les espèces inorganiques et les molécules biologiques.

Par ailleurs, le caractère donneur ou accepteur d'un électron de certaines entités inorganiques intervient, par exemple, dans les mécanismes impliqués au niveau de l'agression oxydante (stress oxydatif) mettant en jeu des espèces activées de l'oxygène (EAO).

A partir de ces données, il est possible d'envisager pour certains composés inorganiques une approche toxicochimique originale, mais bien entendu avec toute la prudence nécessaire [1].

La différence de comportement des produits minéraux vis-à-vis des biomolécules, en particulier au cours de leur métabolisation ou de leur bioactivation, peut

aussi permettre de proposer, comme dans le cas des composés organiques [1], des produits de substitution pour des molécules très dangereuses et toxiques. Les exemples de l'arsane (arsine) et du phosphane (phosphine), sont dans ce sens tout à fait intéressants dans le domaine de la microélectronique et ces applications seront développées dans un article ultérieur de *L'Actualité Chimique* [24].

## De l'acido-basicité au sens de Lewis au principe de Pearson

Sur la base de résultats expérimentaux en toxicité aiguë et à long terme, des relations ont pu être établies par rapport à la classification périodique des éléments [2]. D'où l'approche séduisante, tant pour les chimistes que pour les toxicologues, d'une théorie globale sur la toxicité des éléments (et de leurs dérivés) en fonction de leur place respective dans cette classification.

En fait, il semble encore prématuré d'imaginer qu'une telle théorie globale puisse apporter une réponse à tous les problèmes posés par la toxicité des composés inorganiques. Néanmoins, une telle approche théorique permet d'apporter des éléments de réponse en

\* CNRS, URA 328, Ensic, Institut National Polytechnique de Lorraine, 1, rue Grandville, BP 451, 54001 Nancy Cedex. Tél. : 83.17.50.06. Fax : 83.17.81.20.

\*\* Cnam, Laboratoire de biologie, 292, rue St Martin, 75003 Paris. Tél. : (1) 40.27.20.00. Fax (1) 42.71.93.29.

\*\*\* CNRS, URA 1106, Laboratoire de réactivité de surface et structures, 4, place Jussieu, 75252 Paris Cedex 05. Tél. : (1) 44.27.55.33. Fax : (1) 44.27.60.33.

\*\*\*\* CNRS, UPS 831, Unité de Prévention du Risque Chimique, 91198 Gif-sur-Yvette. Tél. : (1) 69.82.30.65. Fax : (1) 69.07.72.47.

fonction d'un certain type de classification des éléments. Cette classification élaborée par Pearson [3] peut contribuer, par exemple, à apporter une réponse à la question : « avec quel ligand, tel ou tel ion métallique va-t-il pouvoir s'unir préférentiellement pour former un complexe stable (par exemple un adduit), et pourrait être impliqué dans un processus toxique ».

La toxicité intrinsèque d'un métal et de ses ions peut s'expliquer en partie par leurs propriétés physico-chimiques : par exemple, par la réactivité de surface des particules solides, par le potentiel d'ionisation, le potentiel normal du couple redox, la solubilité dans l'eau et les lipides, etc. Celles-ci vont gouverner les interactions des xénobiotiques inorganiques avec les molécules biologiques, c'est-à-dire leur capacité à se combiner aux ligands biologiques.

En milieu biologique (l'organisme humain est constitué à 75 % d'eau), les ions métalliques ont la capacité à se lier aux groupes fonctionnels (ligands) présents sur les biomolécules, ce qui d'ailleurs modifie de nombreuses propriétés de ces ions.

D'un point de vue théorique, chaque partie d'une molécule qui est plus basique au sens de Lewis que le groupe C-H peut être considérée comme donneur potentiel de paires d'électrons. Les acides aminés, les peptides, les protéines, les nucléoprotéines, les acides nucléiques, les acides carboxyliques, les glucides, les lipides, de simples anions, et même l'eau en tant que solvant, tous contiennent des atomes donneurs de paires d'électrons (N, O, P, S, F, Cl, Br, I...).

L'affinité des métaux et de leurs ions (accepteurs de paires d'électrons) pour les groupements et les ligands donneurs de paires d'électrons, biologiquement actifs, dépend de nombreux facteurs et peut, dans une certaine mesure, s'expliquer du point de vue qualitatif et quantitatif sur la base de la théorie HSAB (Hard and Soft Acido-Basicity) de Pearson [3, 5]. Ces facteurs incluent les propriétés du métal, celles de chaque donneur et la nature du solvant entrant en jeu.

Dans l'organisme, les éléments minéraux se trouvent soit à l'état solide (dans les os et les dents par exemple), soit en solution au sens large de ce terme.

En effet, *in vivo*, on peut considérer trois types de solutions :

- 1 - le milieu aqueux (comme le sang et la lymphe ou le cytoplasme cellulaire),
- 2 - le milieu non aqueux, comme l'environnement lipidique des membranes cellulaires,
- 3 - le milieu enzymatique ; ainsi la cavité conduisant au site actif d'une enzyme peut être de nature chimique différente à la fois de celle du support de l'enzyme et de son site actif.

### De l'acido-basicité de Lewis au principe de Pearson (caractère dur-mou)

C'est Ahrland et ses collaborateurs qui, en 1958 [4], ont proposé une extension de l'acido-basicité au sens de Lewis et proposé une répartition en deux grandes classes a et b.

La classe a comprend les accepteurs qui forment les complexes les plus stables avec les atomes donneurs de la deuxième période (N, O, F) de la classification.

La classe b comprend les accepteurs formant les complexes les plus stables avec les atomes donneurs de la troisième période (P, S, Cl), ou ceux des périodes suivantes.

En 1963, Pearson [3] a introduit la terminologie dur-mou (hard-soft acids and bases) pour définir respectivement les classes a et b.

Cet auteur a été conduit à classer les acides (accepteurs de doublets d'électrons) et les bases (donneurs de doublets d'électrons) en trois catégories (durs, mous et intermédiaires), sur la base des valeurs des constantes de formation de leurs sels et de leurs complexes les plus courants.

Le caractère dur-mou est déterminé par un ensemble de propriétés résumé dans le *tableau 1*.

La règle expérimentale de Pearson montre que les liaisons fortes et stables n'existent qu'entre acides et bases (au sens de Lewis) de la même classe, c'est-à-dire soit durs, soit mous.

Wulfsberg [6] ajoute « que les acides les moins mous tendent à se combiner avec les bases les moins molles et les acides plus mous préfèrent les bases plus molles ».

Pratiquement, des séquences d'affinité des accepteurs vis-à-vis des atomes donneurs ont pu être établies.

Wulfsberg [6] a proposé, en outre, une transposition générale et utile des résul-

Tableau 1 - Caractères des acides et des bases selon Pearson [5].

Propriétés*	Caractère	
	Dur	Mou
	<b>Acide (accepteur d'électron)</b>	
Polarisabilité	basse	élevée
Électropositivité	forte	faible
Charge positive ou état d'oxydation	élevée	faible
Taille de l'ion	petite	grande
Nature de la liaison acide-base	ionique	covalente
Électrons périphériques	peu d'électrons difficilement excités	plusieurs électrons** facilement excités
	<b>Base (donneur d'électron)</b>	
Polarisabilité	basse	élevée
Électronégativité	forte	faible
Oxydabilité	difficile	facile
Charge négative	élevée	faible
Taille de l'ion	petite	grande
Nature de la liaison acide-base	ionique	covalente
Orbitales vides disponibles de l'atome donneur	de haute énergie et inaccessible	de basse énergie et accessible***

\* La liste de ces propriétés doit servir de guide pour classer une espèce selon la théorie de Pearson. Mais toutes les conditions ne doivent pas être forcément remplies : plus elles le sont, plus le caractère dur-mou est élevé.

\*\* Il s'agit ici d'électrons des sous-couches p et d (en particulier celles des éléments de transition) susceptibles de former, outre la liaison  $\sigma$  ligand  $\rightarrow$  métal, des liaisons  $\pi$  métal  $\rightarrow$  ligands (avec des bases telles que CO, CN... qui possèdent des orbitales vides et de basse énergie\*\*\*). Par contre, des ligands tels que H<sub>2</sub>O, F<sup>-</sup>, NH<sub>3</sub>... ne peuvent former que des liaisons  $\sigma$  ligand  $\rightarrow$  métal, car sans orbitale libre, ils sont incapables d'accepter des électrons du métal.

tats de Pearson en surimposant sur la classification périodique, les variations de l'électronégativité des éléments (échelle de Pauling) et la classification de Pearson, puisque l'électronégativité, la taille et la charge des éléments sont les paramètres fondamentaux du caractère dur-mou (tableau II).

**Application du principe de Pearson : quelques exemples en toxicochimie inorganique**

**Ions métalliques acides durs**

Sur le tableau II [6], on remarque que les ions métalliques acides durs proviennent d'éléments occupant une grande partie de la classification périodique. Ceux-ci ont en commun une électronégativité faible (0,8 à 1,6) et on retrouve dans ce groupe les métaux les plus électropositifs. La plupart de ces ions sont petits et/ou fortement chargés.

Plusieurs ions métalliques acides durs sont essentiels à la vie : Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> et Mg<sup>2+</sup>. Il n'est donc pas étonnant que des congénères chimiques acides durs, appartenant à la même colonne verticale (propriétés chimiques voisines) soient des toxiques pour l'organisme : Li<sup>+</sup>, Rb<sup>+</sup>, Be<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup> et Ba<sup>2+</sup> (les composés du césium sont peu toxiques, à part l'hydroxyde).

• Les **éléments alcalins du groupe 1**, comme les **alcalino-terreux du groupe 2**, constituent des familles très homogènes

Les éléments alcalins sont biologiquement actifs sous forme d'ions monovalents hydratés. Ils ne forment pas de complexe, sauf avec les éthers-couronnes et les cryptands de Lehn ou encore avec certains antibiotiques macrocycliques.

Si le rubidium a des applications industrielles limitées (microélectronique), le césium a, par contre, de nombreux usages industriels (domaine photoélectrique...). En tant que déchets nucléaires, <sup>134</sup>Cs et <sup>137</sup>Cs peuvent contaminer l'environnement (donc les chaînes alimentaires). Ces radionucléides absorbés par l'organisme humain diffusent ensuite comme K<sup>+</sup> et interfèrent avec ce dernier.

Le lithium (Li<sup>+</sup>) par plusieurs aspects n'est pas typique du groupe 1, mais ressemble par une similitude que les chimistes qualifient de diagonale à des éléments du groupe 2 (en particulier à

Mg<sup>2+</sup> mais aussi à Ca<sup>2+</sup>), ce qui explique certains aspects de sa toxicité (figure 1).

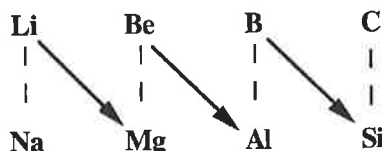


Figure 1 - Ressemblances diagonales dans la classification périodique.

Le lithium est utilisé en thérapeutique dans le traitement curatif et préventif des troubles maniaques et maniaco-dépresseurs, mais avec une marge de sécurité thérapeutique faible. En effet, au-delà de la dose efficace apparaissent les effets secondaires toxiques (toxicité sur le système nerveux central, rénal, cardiovasculaire). Les points d'impact de Li<sup>+</sup> sont nombreux : modification des phénomènes de transport de Na<sup>+</sup>, en inhibant le mécanisme d'échanges ioniques et de la conduction nerveuse ; influence sur les métabolismes de K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, interaction avec les inositols phosphates, etc.

• Quant aux **alcalino-terreux**, ils donnent des composés à caractère ionique et divalent mais ils forment peu de complexes (chélates, cryptates).

Le strontium (Sr<sup>2+</sup>) remplaçant le calcium (Ca<sup>2+</sup>), on comprend le danger, surtout pour les enfants, mais aussi pour les adultes, du <sup>90</sup>Sr radioactif relâché lors d'accidents mineurs ou majeurs de centrales nucléaires. En effet, par

concentration dans les chaînes alimentaires, on le retrouvera dans les aliments essentiels pour l'Homme (lait, viande des mammifères, etc.). Sr<sup>2+</sup> se fixe préférentiellement d'une manière persistante dans le squelette (<sup>90</sup>Sr, période t<sub>1/2</sub> = 29 ans), contrairement au césium qui s'élimine assez rapidement.

Le baryum (Ba<sup>2+</sup>) et ses dérivés ont des usages industriels. Ses sels insolubles sont pratiquement atoxiques. Ainsi le sulfate de baryum (BaSO<sub>4</sub>) est utilisé comme produit de contraste en gastro-entérologie sous forme de suspension barytée. Par contre les sels solubles (Ba<sup>2+</sup>) sont très toxiques car ce cation interfère avec le K<sup>+</sup> (syndrome musculaire, pulmonaire, cardio-vasculaire, etc.).

Le béryllium (Be<sup>2+</sup>), en tant que tête de la colonne 2, présente des différences appréciables avec ses suivants verticaux mais se rapproche de l'aluminium (Al<sup>3+</sup>) par similitude diagonale. Les composés du béryllium (Be<sup>2+</sup>), comme ceux de l'aluminium (Al<sup>3+</sup>) précipitent au pH physiologique : la toxicité de ces composés acides durs s'expliquerait par la formation de complexes (solubles) par l'intermédiaire de l'atome d'oxygène, atome donneur dur de groupements (OH, COOH), d'espèces simples (citrate, lactate, aspartate, maltol, etc.).

Au niveau cellulaire, le béryllium (Be<sup>2+</sup>) se concentre dans le noyau où il bloque la synthèse de l'ADN par inhibition de la déoxythymine kinase. Le béryllium peut former des complexes

Tableau II - Classification périodique/électronégativité/concept dur-mou. Tableau modifié, d'après Wulfsberg [6] (remarque : ce tableau n'est donné qu'à titre indicatif).

H 2,2																	He																											
Li 0,98	Be 1,57	acides durs										B 2,04	C 2,55		N 3,04	O 3,44	F 3,98	Ne																										
Na 0,91	Mg 1,31											Al 1,61	Si 1,90	P 2,19	S 2,58	Cl 3,16	Ar																											
K 0,82	Ca 1,00	Sc 1,36	Ti 1,54	V 1,63	Cr 1,66	Mn 1,55	Fe (+3) 1,83 (+2)	Co (+3) 1,88 (+2)	Ni 1,91	Cu (+2) 2,0 (+1)	Zn 1,65	Ga 1,81	Ge 2,01	As 2,18	Se 2,55	Br 2,96	Kr 3,0																											
Rb 0,82	Sr 0,95	Y 1,22	Zr 1,33	Nb 1,6	Mo 2,167	Tc 1,97	Ru 2,2	Rh (+3)2,28 (+1)	Pd 2,20	Ag 1,93	Cd 1,69	In (+3) 1,78 (+1)	Sn (+4) 1,96 (+2)	Sb 2,05	Te 2,1	I 2,66	Xe 2,6																											
Cs 0,79	Ba 0,89	Lu 1,27	Hf 1,3	Ta 1,5	W 2,367	Re 1,97	Os 2,2	Ir (+3)2,2 (+1)	Pt 2,28	Au 2,54	Hg 2,0	Tl 1,66 (+1) 2,04 (+3)	Pb (+2) 1,87 (+4)	Bi 2,02																														
Fr 0,7	Ra 0,9																																											
<table border="0" style="width:100%; text-align:center;"> <tr> <td>La 1,10</td> <td>Ce 1,12</td> <td>Pr 1,13</td> <td>Nd 1,14</td> <td>Pm</td> <td>Sm 1,17</td> <td>Eu 1,20</td> <td>Gd 1,22</td> <td>Tb 1,25</td> <td>Dy 1,25</td> <td>Er 1,24</td> <td>Tm 1,25</td> <td>Yb</td> </tr> <tr> <td>Ac 1,1</td> <td>Th 1,3</td> <td>Pa 1,5</td> <td>U 1,38</td> <td>Np 1,36</td> <td>Pu 1,28</td> <td>Am 1,3</td> <td>Cm 1,3</td> <td>Bk 1,3</td> <td>Cf 1,3</td> <td>Es 1,3</td> <td>Fm 1,3</td> <td>Md 1,3</td> <td>No 1,3</td> </tr> </table>																		La 1,10	Ce 1,12	Pr 1,13	Nd 1,14	Pm	Sm 1,17	Eu 1,20	Gd 1,22	Tb 1,25	Dy 1,25	Er 1,24	Tm 1,25	Yb	Ac 1,1	Th 1,3	Pa 1,5	U 1,38	Np 1,36	Pu 1,28	Am 1,3	Cm 1,3	Bk 1,3	Cf 1,3	Es 1,3	Fm 1,3	Md 1,3	No 1,3
La 1,10	Ce 1,12	Pr 1,13	Nd 1,14	Pm	Sm 1,17	Eu 1,20	Gd 1,22	Tb 1,25	Dy 1,25	Er 1,24	Tm 1,25	Yb																																
Ac 1,1	Th 1,3	Pa 1,5	U 1,38	Np 1,36	Pu 1,28	Am 1,3	Cm 1,3	Bk 1,3	Cf 1,3	Es 1,3	Fm 1,3	Md 1,3	No 1,3																															
acides durs																																												

stables avec certaines protéines possédant des groupes hydroxyle et carboxylate comme indiqué dans le schéma de la figure 2 [7].

Le béryllium et ses dérivés sont très utilisés dans l'industrie et les intoxications sont essentiellement de type professionnel (forme aiguë rappelant la fièvre des fondeurs, pneumonie chimique, etc., ou forme chronique : dermatose, béryllose : fibrose pulmonaire, cancers osseux ou bronchopulmonaires).

- **L'aluminium** ( $Al^{3+}$ ). Si des sels d'aluminium insolubles peuvent être ingérés comme médicaments anti-acides gastriques, chez un homme normal le peu d'aluminium absorbé est vite éliminé et ne s'accumule pas. Par contre, chez des insuffisants rénaux dialysés, on a vu autrefois se développer une ostéomalacie et une encéphalopathie mortelle par accumulation d'aluminium venant, 1) du liquide de dialyse insuffisamment purifié et 2) des gels d'aluminium ingérés régulièrement pour contrôler le phosphore sérique. En milieu industriel, l'inhalation de certains sels (fluorure, sulfate) peut entraîner une inflammation des bronches, un syndrome asthmatiforme, et certains hygiénistes pensent que des doses élevées d'alumine pourraient engendrer une pneumoconiose (aluminose).

- **Les lanthanoïdes ou lanthanides** (terres rares) ont des propriétés assez comparables entre elles, puisque leur seule différence de configuration électronique réside dans le remplissage de la sous-couche interne 4f. Les premiers ressemblent au calcium, puis, à mesure que leur numéro atomique croît, les propriétés chimiques se rapprochent de celles de l'aluminium.

Les lanthanoïdes sont typiquement des acides durs qui ont une grande affinité pour les atomes donneurs durs comme l'oxygène, l'azote ou le fluor. Ils donnent des cations (charge habituelle +3) qui forment des complexes stables avec les acides organiques (citrique, lactique) par l'intermédiaire de l'atome d'oxygène, et avec les acides aminés, les peptides, les protéines et les nucléoprotéines.

Depuis quelques années, on observe un accroissement du nombre d'applications industrielles des terres rares (métallurgie, industries chimiques, nucléaires, électroniques, verres, céramiques et surtout pots catalytiques). Leur toxicité chez l'Homme commence à être un peu mieux connue

mais bien des points d'ombre subsistent encore. Classiquement, les lanthanoïdes sont considérés comme moyennement toxiques. L'inhalation de poussières de terres rares (parfois contaminées par du béryllium ou du césium) peut conduire à des pneumoconioses.

#### Ions métalliques acides mous

Ils sont moins nombreux et dérivent dans la classification d'éléments formant une sorte de triangle autour de l'or (métal noble) dont le sommet serait le cuivre (I).

Ces éléments ont comme propriétés atomiques fondamentales d'être des métaux, caractérisés par une électronégativité de Pauling assez forte pour des métaux (entre 1,7 et 2,54). Chimiquement, ce sont des métaux peu réactifs. Dans la nature, ils se trouvent à l'état natif ou sous forme de sulfure (base molle) ou de minerais apparentés. En général, les ions sont de taille assez grande et de charge faible (habituellement +1 ou +2).

*In vivo*, les acides mous comme  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Ag^+$ ,  $Tl^+$  forment des liaisons solides avec des bases molles comme  $H-S^-$  ou  $R-S^-$ , ce qui explique l'inactivation des enzymes à groupements thiol. De même, l'action d'acides mous sur la base molle  $R-S-Se-H$  explique l'inactivation des enzymes à sélénium, comme la glutathion peroxydase.

Tous sont toxiques pour l'organisme. Aucun n'est essentiel chez l'Homme hormis le cuivre (I), qui intervient dans des réactions redox  $Cu^I/Cu^{II}$  (le  $Cu^{II}$  est un acide intermédiaire). Ils sont appelés

improprement métaux lourds, terme qui est à proscrire. Étant des acides mous, ils vont se lier aux ligands (groupements) ayant des atomes donneurs mous : essentiellement au S (mais aussi au Se) présent dans de nombreuses enzymes sous forme de thiolate ( $R-S^-$ ) provenant de la cystéine, mais aussi à l'azote comme ceux présents dans l'hétérocycle imidazolique de l'histidine.

Ainsi la neurotoxicité élevée du méthylmercure ne serait pas liée uniquement au caractère lipophile de ses sels, mais aussi à la grande mollesse du cation méthylmercure ( $CH_3-Hg^+$ ). Le transport du méthylmercure ( $CH_3-Hg^+$ ) dans le sang et son passage à travers la barrière hémato-méningée se fera après liaison avec le glutathion réduit ( $G-S-H$ ) par l'intermédiaire de sa fonction thiolate ( $G-S^-$ ). C'est aussi sous cette forme que le méthylmercure est éliminé dans la bile et passe ainsi dans l'intestin.

En présence de  $\gamma$ -glutamyltransférase ( $\gamma$ GT), puis d'une dipeptidase, le complexe du méthylmercure avec le glutathion est transformé en méthylmercure cystéine qui passe facilement à travers la barrière hémato-encéphalique et ceci en mimant la méthionine (figure 3) [8]. De plus, la méthylmercure cystéine est la principale forme d'élimination urinaire du méthylmercure.

Un autre exemple des propriétés de ces ions acides mous est leur capacité de se fixer aux métallothionéines ; ces protéines dont la synthèse par les organismes vivants est augmentée à la suite de l'exposition à des métaux toxiques. Chez les mammi-

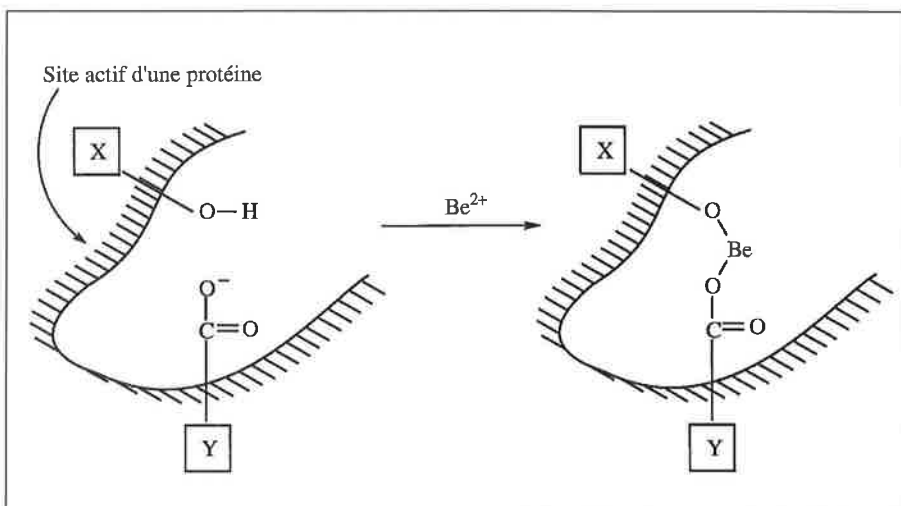


Figure 2 - Interaction du béryllium ( $Be^{2+}$ ) avec les fonctions hydroxyles et carboxyliques d'acides aminés du site actif d'une protéine.

X = Acide aminé hydroxylé (sérine, thréonine, tyrosine).

Y = Acide aminé à fonction carboxylique terminale (acide aspartique, acide glutamique).

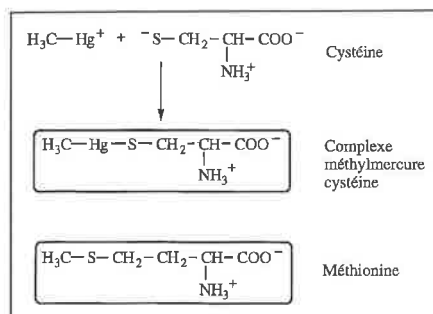


Figure 3 - Comparaison de la formule du complexe méthylmercure cystéine avec celle de la méthionine.

frères, ces protéines sont constituées d'une soixantaine d'acides aminés, dont un tiers de cystéine, et peuvent fixer 7 cations bivalents (figure 4). La présence de nombreux restes de cystéine (S est un donneur mou) et leur arrangement tout à fait particulier en séquences est favorable à la fixation de cations ayant un comportement mou. L'ordre d'affinité des ions bivalents pour la métallothionéine est la suivante :  $Hg^{2+} > Cd^{2+} > Pb^{2+} > Zn^{2+}$ . Ainsi les ions  $Cd^{2+}$  libres, bien que présents à très basse concentration dans la cellule, sont fixés au détriment du zinc présent dans la métallothionéine à l'état natif, car leur affinité pour cette protéine est  $10^4$  fois plus forte que celle des ions  $Zn^{2+}$ .

#### Ions métalliques acides intermédiaires

Certains accepteurs peuvent présenter des caractéristiques qui les rapprochent des accepteurs mous et d'autres qui les associent aux accepteurs durs. Ils se situent entre ces deux classes et sont dénommés intermédiaires (ou borderline selon Pearson). On trouve dans cette catégorie des ions tels que  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  ainsi que  $Zn^{2+}$ .

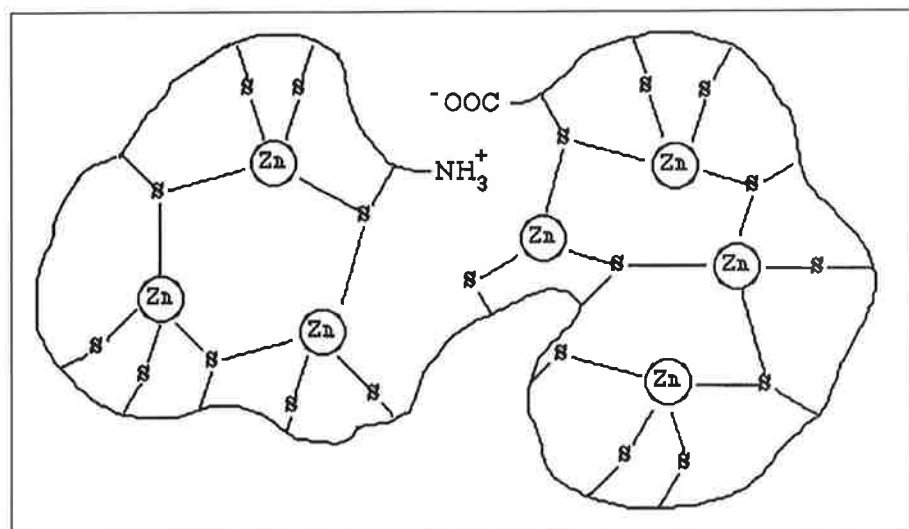


Figure 4 - Répartition des ions  $Zn^{2+}$  dans la métallothionéine [9].

La plupart des ions des éléments traces sont des acides intermédiaires (ou intermédiaires mous). Ils forment donc des liaisons moins stables (réversibles) avec les ligands biologiquement actifs (à atome donneur dur O et moins dur, N aliphatique), ce qui permet de maintenir des conditions dynamiques, nécessaires à la vie cellulaire. Bien entendu, en quantité excessive, ils peuvent être toxiques.

Du point de vue chimique, ils appartiennent aux métaux de transition (bloc d), qui ont en commun un certain nombre de propriétés physico-chimiques. Leur substitution par un congénère proche se révélera toxique. Ainsi, la toxicité du nickel serait en partie due à ses interférences (antagonismes) avec des ions essentiels comme  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  ou  $Mn^{2+}$ . En particulier, la génotoxicité des ions  $Ni^{2+}$  pourrait être en partie liée à l'interaction avec l'ion  $Zn^{2+}$  des protéines nucléaires à doigts de zinc.

#### Atomes donneurs durs caractérisant les bases dures

Ils forment un petit bloc, situé tout en haut à droite de la classification périodique et constitué de l'oxygène et du fluor. Ces atomes donneurs durs ont l'électronégativité la plus élevée (3,5 à 4) : ce sont donc des éléments non métalliques avec les plus petits rayons anioniques (environ 0,12 nm).

L'oxygène est l'atome donneur d'une multitude de ligands biologiques : oxo-anions tels que sulfate, carbonate, silicate, phosphate ; anions d'acides organiques comme l'acétate ; groupements fonctionnels, alcool, phénol, éther-

oxyde, aldéhyde, cétone, etc., sans oublier bien entendu l'eau (solvant). Ces ligands seront des bases dures.

Ceci explique la toxicité de xénobiotiques comme les oxo-anions, isostères et isoélectroniques de certains oxo-anions précédemment cités : par exemple les arsénates (V) et vanadates (V), remplaçant les phosphates (V), ou les chromates (VI) se substituant aux sulfates (VI) (figure 5).

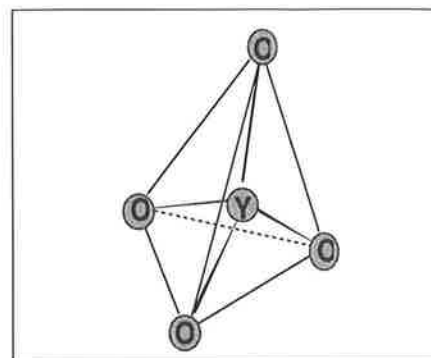


Figure 5 - Structure de quelques oxo-anions (Y atome central =  $P^V$ ,  $As^V$ ,  $V^V$  ou  $S^VI$ ,  $Cr^VI$ ,  $Mo^VI$ , etc.).

Ces analogues chimiques utilisent vraisemblablement les mécanismes de transport d'anions endogènes (transporteurs, soit des phosphates, soit des sulfates), et/ou interfèrent avec certaines voies métaboliques de ces anions biologiquement essentiels.

On sait que l'arsénate (V) est notamment un découplant durant la glycolyse des réactions de phosphorylation oxydative par un mécanisme bien connu, dit réaction d'arsénolyse.

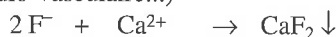
Le vanadate (V) est un inhibiteur puissant de l'ATPase  $Na^+$ ,  $K^+$  dépendante, au niveau des cellules du cœur, des reins et du cerveau. Par contre, son interaction avec les phosphates semble peu importante.

Quant aux chromates (VI), ils pénètrent dans les cellules par le système de transport des sulfates (alors que le Cr (III) est incapable de le faire) et, après réduction, il apparaît transitoirement l'espèce radicalaire  $Cr^{\cdot V}$  capable de réagir avec le dioxygène moléculaire pour engendrer des espèces très électrophiles et donc susceptibles d'agression au niveau des macromolécules cellulaires en particulier de l'ADN nucléaire, comme l'indique le schéma de la figure 6.

Les molybdates (VI) sont considérés comme peu toxiques.

- Le fluor est un élément essentiel à très petites doses, nécessaire à la calcifica-

tion des os et des dents (fluoro-apatite) mais, à plus forte dose (lors d'intoxication à long terme), il entraîne au contraire la destruction de l'apatite et une décalcification (fluorose d'origine domestique ou industrielle). L'anion fluorure (base dure) bloque de nombreux mécanismes (tel celui de la coagulation) et inhibe de nombreuses enzymes (par exemple celles de la glycolyse) par complexation des coenzymes à  $Mg^{2+}$  et  $Ca^{2+}$  (ions acides durs). L'intoxication aiguë par les fluorures est rare mais fatale, par complexation du  $Ca^{2+}$  sous forme de fluorure de calcium insoluble (syndrome digestif, neuromusculaire, pulmonaire, cardio-vasculaire...)



Anion fluorure Cation calcium Fluorure de calcium

**Atomes donneurs mous caractérisant les bases molles**

Comme le *tableau n°II* [6] le montre, les atomes donneurs C, P, As, Se, Te, Br, I sont le plus souvent mous. Les plus mous sont ceux ayant l'électronégativité la plus faible : As, Se, Te, I. On voit qu'ils forment une rangée oblique, située à la frontière métal-non métal.

Du point de vue fondamental, ces donneurs mous sont des éléments non métalliques, avec une électronégativité de 2,1 à 2,8. Ce sont les plus gros des éléments non métalliques, avec un rayon anionique supérieur à 0,17 nm.

Ils ont une chimie plus complexe et, pour certains, une variété de valence importante (exemple de l'arsenic [(-III) à (+V)]).

Il faut noter que le carbone, le phosphore (à l'état de liaisons phosphates) et le soufre sont des constituants majeurs de la matière vivante.

Beaucoup peuvent être bénéfiques à petite dose et sont même essentiels à la vie (sélénium, iode).

- L'**iode** est incorporé dans les hormones thyroïdiennes, d'où le danger de  $^{131}I$  lors d'accidents nucléaires, responsable de cancers de la thyroïde (Tchernobyl).

- Le **sélénium** est un élément trace, constituant notamment la glutathion peroxydase qui protège contre les effets oxydants du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et des hydroperoxydes. Par ailleurs, le sélénium protège aussi contre la toxicité de métaux comme l'argent, le mercure, le cadmium et le cuivre par formation de

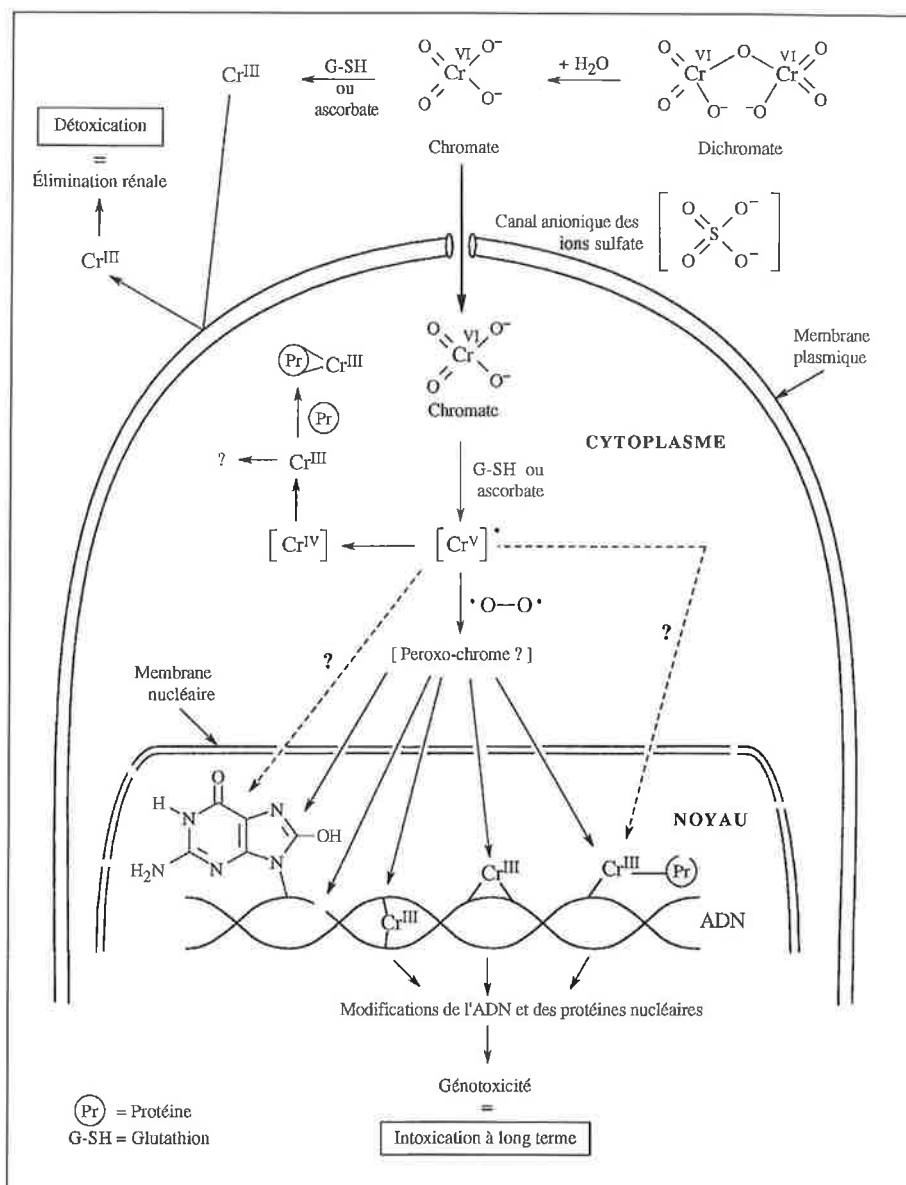


Figure 6 - Transport, métabolisation et bioactivation de l'anion chromate (VI).

séléniures insolubles. En excès, le sélénium est un élément toxique (atteinte de la peau, des phanères, du système nerveux, du foie...) mais on ignore par quels mécanismes biochimiques.

Des bases molles comme l'oxyde de carbone (CO) et les ions cyanures ( $CN^-$ ) sont des toxiques bien connus (par leur atome de carbone qui est un donneur mou). Elles complexent fortement des ions métalliques (biologiquement essentiels) qui sont des acides mous intermédiaires comme le fer (II) dans l'hème, le fer et le cuivre dans la cytochrome oxydase.

- $PH_3$  (phosphane),  $AsH_3$  (arsane),  $SH_2$  (sulfane),  $SeH_2$  (séléname) et leurs dérivés méthylés ont des atomes donneurs mous et sont donc des bases molles également très toxiques.

**Les transferts mono-électroniques dans les processus de métabolisation des poussières**

A la différence des composés organiques, les poussières minérales sont pour l'essentiel transformées (métabolisées) en milieu aqueux et non en milieu lipophile et, sauf pour quelques cas particuliers, l'intervention des systèmes enzymatiques n'a pas d'influence majeure sur le devenir des particules.

Les interactions premières entre particules et milieu biologique impliquent donc des phénomènes de pénétration de l'eau et des molécules biologiques en solution dans les couches superficielles

des particules, conduisant soit à une dissolution simple, soit à une mise en solution complexante, soit à une transformation du solide par lixiviation.

C'est lors de ces processus de métabolisation primaire qu'apparaissent des entités chimiques réactives susceptibles de jouer un rôle dans les processus toxiques :

- cations hydratés en solution,
- cations complexés avec pour ligands des acides aminés, des peptides, etc.,
- sites actifs à l'interface de la particule et du milieu.

### Espèces électrophiles et toxicité

Des nombreuses études sur les propriétés des poussières inorganiques toxiques, il ressort que la plupart des pneumopathies induites par ces poussières sont liées à la capacité de ces matériaux à générer des espèces électrophiles, mais aussi à la sensibilité des macromolécules biologiques aux attaques électrophiles au niveau de leurs sites nucléophiles.

Toute recherche toxicochimique appliquée aux poussières minérales va donc se focaliser sur la formation possible d'espèces électrophiles lors du processus de métabolisation. Pour l'essentiel, ces espèces sont des espèces activées de l'oxygène (EAO) formées lors de l'interaction entre les métabolites primaires et l'oxygène moléculaire (dioxygène) présent en concentration stationnaire dans tous les compartiments biologiques. Les processus biologiques dus à l'apparition d'EAO relèvent de ce qu'il est convenu d'appeler maintenant le stress oxydant (ou agression oxydante), processus dû à une rupture d'équilibre entre pro-oxydants et antioxydants.

L'agression oxydante est impliquée dans tous les phénomènes de vieillissement et d'inflammation et dans un nombre sans cesse croissant de pathologies (emphysème, fibrose, cancer, ischémie cardiaque, cataracte, etc.).

Trois groupes d'EAO peuvent être distingués :

- celui où l'oxygène est seul ou lié à l'hydrogène ( $^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{O}_3^*$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{OH}^*$ , etc.),
- celui où l'oxygène est lié à une entité organique ( $\text{ROOH}$ ,  $\text{ROO}^*$ ,  $\text{RO}^*$ , etc.),
- celui où l'oxygène est lié à un cation en état d'hypervalence (espèces ferryl,

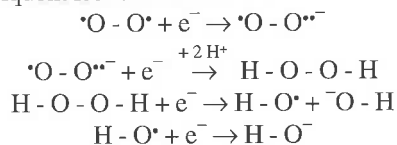
perferryl, cuivre-oxo, nickel-oxo, etc.).

Ce dernier groupe, où les espèces sont les moins bien connues, joue sans doute le rôle le plus important dans la toxicité de nombreux composés minéraux.

### Les toxiques ultimes formés lors de la métabolisation

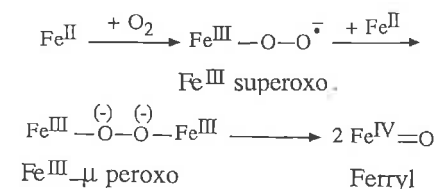
Le processus de formation des toxiques ultimes peut être schématisé comme ci-après (figure 7).

Quelques exemples de formation d'EAO lors de la réduction du dioxygène peuvent permettre de préciser ce processus. Un exemple très général est celui de la réduction monoélectronique du dioxygène en eau en quatre étapes comme l'indiquent les réactions ci-dessous.

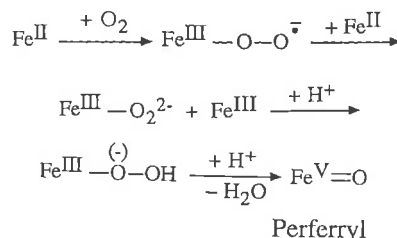


Le radical hydroxyle  $\text{OH}^*$  est une entité remarquablement active et capable d'oxyder pratiquement toutes les molécules biologiques. Le processus réel, quand la source d'électrons correspond à un composé des métaux, est en général plus compliqué et il n'est pas encore connu dans le détail. Deux des propositions avancées dans le cas où la source d'électrons est le fer divalent peuvent être rapportées :

- Schéma avancé par Mimoun [10] :



- Schéma avancé par Yamaguchi et coll. [11] :



Les espèces ferryl et perferryl sont, au même titre que le radical hydroxyle, des espèces très électrophiles capables d'attaquer les macromolécules biologiques.

Bielski [12, 13] récemment a caractérisé les espèces perferryl comme des anions ( $\text{HFe}^{\text{V}}\text{O}_4$ )<sup>2-</sup> et ( $\text{H}_2\text{Fe}^{\text{V}}\text{O}_4$ )<sup>-</sup> où le fer, tétracoordiné, est lié aux atomes d'oxygène par des liaisons covalentes.

Toutes ces espèces ont évidemment des durées de vie d'autant plus courtes qu'elles sont plus actives, d'où les difficultés de leur caractérisation.

Après réaction avec des molécules cibles, elles évoluent vers l'état  $\text{Fe}^{\text{III}}$  stable.

Dans certains processus pathologiques comme les fibroses, les particules sont phagocytées par des cellules particulières du système immunitaire, les macrophages. Deux autres entités oxygénées : l'anion superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) peuvent alors intervenir dans ce type de cellules et, par réaction avec les métabolites primaires, engendrer des EAO à caractère plus électrophile.

Compte tenu de la diversité des EAO, il est absolument nécessaire d'introduire des distinctions au sein de l'ensemble qu'elles forment. Mais la plupart de ces espèces étant très difficiles à caractériser, on peut se contenter de subdiviser l'ensemble des EAO en trois sous-ensembles en fonction de leur caractère électrophile. Le sous-ensemble  $\text{A}^*$  contient les espèces très électrophiles, à durée de vie courte. Le sous-ensemble  $\text{P}^*$  contient des espèces moins électrophiles, essentiellement capables de déclencher la peroxydation de lipides polyinsaturés (figure 8). Enfin le troisième sous-ensemble contient des espèces peu agressives comme  $\text{O}_2^-$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Dans le cadre des mécanismes impliqués dans l'agression oxydante, ce sont essentiellement les espèces  $\text{A}^*$  et  $\text{P}^*$  qui jouent le rôle de toxiques ultimes [14].

Il faut aussi signaler que d'autres entités réactives comme les espèces activées de l'azote (EAN) telles que l'oxyde d'azote ( $^*\text{N} = \text{O}$ ) peuvent aussi intervenir dans les processus toxiques impliquant des xénobiotiques inorganiques (amiante...) [15].

La formation à partir de composés inorganiques d'EAO du type  $\text{A}^*$  et  $\text{P}^*$  permet, dans des milieux modèles, de juger de la capacité des matériaux à déclencher des phénomènes d'agression oxydante.

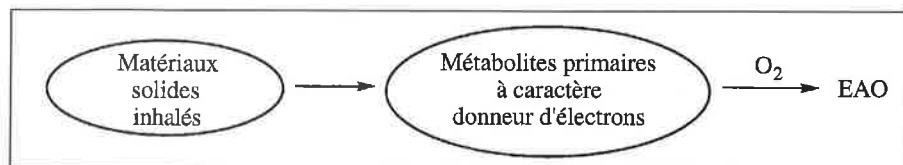


Figure 7 - Processus de formation des toxiques ultimes.

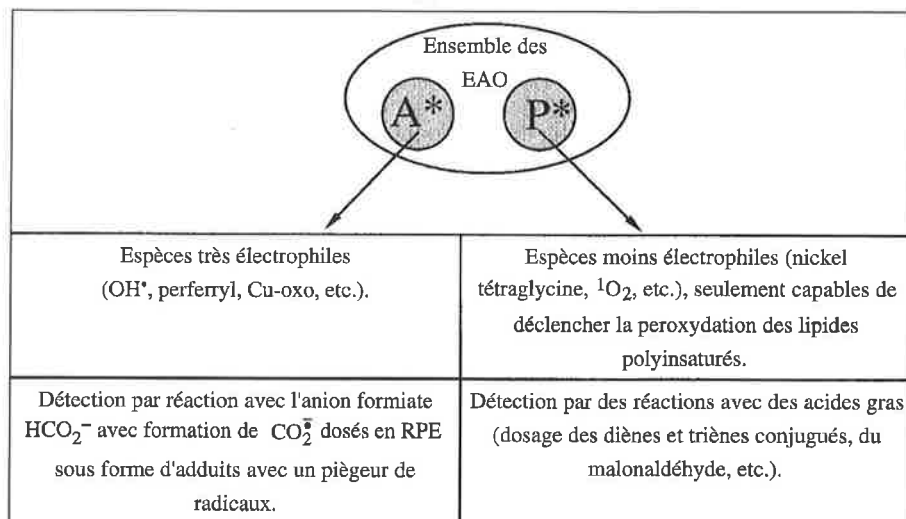


Figure 8 - Espèces activées de l'oxygène (EAO) très électrophiles et moins électrophiles.

### Groupes de composés minéraux précurseurs de l'agression oxydante

Les composés minéraux précurseurs de l'agression oxydante sont les composés qui, lors du processus de métabolisation primaire, sont à même de présenter des propriétés de donneur d'électrons pour l'oxygène moléculaire.

Quatre groupes de composés peuvent être distingués sans pour autant préjuger de ce que sera la toxicité d'un composé particulier au sein de l'un des groupes.

- Le groupe des métaux et des composés à caractère métallique, comme certains sulfures et arséniures (Ni<sub>3</sub>S<sub>2</sub>, NiAs par exemple).
- Le groupe des matériaux contenant des cations à caractère réducteur (Fe<sup>II</sup>, Ti<sup>III</sup>, Cu<sup>I</sup>, Cr<sup>II</sup>).
- Le groupe des composés contenant des cations à haut degré d'oxydation, mais aisément réductibles par des réducteurs biologiques communs, comme l'ascorbate, avec formation de cations capables de réduire l'oxygène moléculaire. Tel est le cas des composés du Cr<sup>VI</sup> et du Cu<sup>II</sup> aisément réduits en Cr<sup>V</sup> et Cu<sup>I</sup>, capables d'activer le dioxygène [16, 17]. Le Fe<sup>III</sup> ne sera aisément réduit en Fe<sup>II</sup> que s'il est entouré de certains ligands qui augmentent son caractère oxydant.
- Enfin, le groupe des composés qui

contiennent des cations incapables, à l'état hydraté, de réduire le dioxygène, mais qui forment aisément des complexes avec des peptides, des acides aminés, etc., dont certains sont capables d'activer l'oxygène moléculaire (par exemple le complexe nickel tétraglycine [Ni (II) G4] (figure 9) [18]).

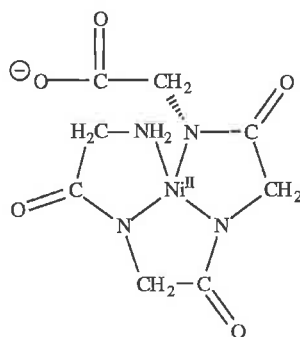


Figure 9 - Nickel tétraglycine Ni (II) G4.

### Cinétique de formation des EAO et toxicité

S'il est possible, comme nous l'avons indiqué ci-dessus, de délimiter des groupes de composés précurseurs potentiellement capables d'activer le dioxygène en milieu biologique, cela ne signifie pas que tous les composés de ces groupes peuvent jouer un rôle identique. Certains sont très actifs dans une pathologie et pas dans une autre, d'autres sont peu actifs ou même inactifs.

En effet les facteurs cinétiques et les conditions de milieu propres à chaque pathologie jouent un rôle déterminant.

Les facteurs cinétiques dépendent étroitement de la structure des matériaux au sein du grain de poussière mais aussi de la structure des couches superficielles, ces facteurs conditionnant directement l'interaction entre entités réductrices et oxygène moléculaire.

Parallèlement, la nature du milieu et le type d'agression en cause sont à prendre en compte, pathologie par pathologie.

Dans le cas de l'emphysème, où l'agression oxydante intervient en milieu extracellulaire en inhibant un système de défense, seules les poussières capables de libérer rapidement en solution le métabolite à caractère donneur d'électrons jouent un rôle. Tel est, semble-t-il, le cas du FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O soluble, composé que l'on trouve par exemple dans certaines poussières de charbon [19].

Dans le cas des fibroses (silicose, asbestose, etc.) l'activité toxique en cause implique un mécanisme permanent, donc catalytique, au sein de cellules particulières (les macrophages) où la phagocytose s'accompagne de la production de l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) et d'eau oxygénée, d'où la nécessité d'une modélisation particulière des processus en cause.

Enfin, dans le cas des cancers du poumon, au stade de l'initiation, la formation des entités électrophiles est à rechercher après internalisation des particules au sein de cellules épithéliales. En milieu modèle, il apparaît nettement que certains composés appartenant aux groupes des précurseurs ne sont pas métabolisés avec une cinétique conséquente dans la formation d'EAO. Tel est le cas du chromate de baryum (BaCrO<sub>4</sub>) insoluble et non lixiviable. Il en est de même pour la sidérite (FeCO<sub>3</sub>) où la couche superficielle oxydée ralentit considérablement l'accessibilité du dioxygène aux Fe<sup>II</sup>. Par contre, il est de plus en plus largement admis que le caractère cancérigène des diverses variétés d'amiante est dû en partie à leur contenu en fer divalent.

### Spéciation dynamique des matériaux

Une simple caractérisation classique des matériaux est donc souvent insuffisante pour juger de ce que sera leur activité toxique dans telle ou telle pathologie. C'est la raison pour laquelle les anglo-



saxons ont introduit le concept de spéciation dynamique par référence, non seulement à la description de la structure et des propriétés les plus courantes des matériaux, mais aussi par référence à la caractérisation de l'évolution de leurs propriétés dans tel ou tel milieu.

Toute démarche toxicochimique implique de fait une telle spéciation, susceptible de rendre compte de l'apparition d'entités toxiques dans un milieu donné face à des molécules cibles préalablement identifiées selon les modalités de la recherche biologique [22].

Un exemple, toujours par référence à des processus d'agression oxydante, peut illustrer ce type de démarche.

D'importants excès de cancer (nez et poumons) sont apparus dans d'anciennes raffineries de nickel (1903-1930) utilisant des processus pyrométallurgiques. L'approche toxicochimique [20, 21] étudiant l'apparition d'EAO à caractère fortement électrophile (espèces A\*), à partir des différents matériaux pouvant polluer l'atmosphère des usines concernées, permet de montrer que les arséniures de nickel et les arséniures nickel-cuivre sont parmi les matériaux les plus actifs pour générer, en milieu aqueux tamponné, les EAO fortement électrophiles (espèces A\*). Il apparaît donc, que ces matériaux, et en particulier l'orcélite, arséniure de nickel complexe de la forme  $(\text{NiFeCu})_4,2(\text{AsS})_2$ , sont très probablement responsables de l'excès de cancers observés, d'autant plus que cet excès de cancer a considérablement régressé dès que l'ajout d'arsenic dans le processus technologique a été supprimé (après 1930).

## Conclusion

L'état des connaissances sur les mécanismes intervenant dans la toxicité des produits inorganiques est actuellement en plein développement, mais l'approche au niveau moléculaire apparaît beaucoup plus complexe que pour les composés organiques [1].

En effet, beaucoup de recherches seront encore nécessaires pour arriver à interpréter correctement la toxicité des composés minéraux, toxicité variable selon l'espèce chimique considérée, d'où l'importance grandissante de la prise en considération de la spéciation [22].

Certaines propriétés physico-

chimiques des ions, notamment au niveau de l'acido-basicité (selon le concept dur-mou de Pearson) permettent de comprendre, sinon de prédire leur interaction avec les macromolécules cellulaires et une première approche de ce type est proposée. Il est opportun de réaliser que ces éléments doivent être pris en compte de manière relative par le toxicologue. Par exemple, on ne peut négliger dans l'analyse les expérimentations réalisées *in vitro* et à plus forte raison dans celle d'expérimentations réalisées *in vivo*, l'existence d'interactions ioniques dont les conséquences physiopathologiques et toxicologiques sont mal connues actuellement. Il reste évident que, de nombreux systèmes enzymatiques fonctionnent de façon réversible et comme les réactions mettent en jeu des variations énergétiques souvent faibles, la prédiction qualitative peut quelquefois être erronée. Il faudra souvent tenter une approche plus quantitative à partir des données thermodynamiques correctes lorsqu'elles sont accessibles.

Les transferts monoélectroniques, mis en jeu durant la réactivité de divers composés minéraux (solubles ou insolubles), font aussi l'objet de nombreuses recherches. Ceci devrait à terme conduire à une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans les agressions toxiques et aboutir à proposer des produits de substitution pour les composés les plus dangereux pour la santé (amiante, composés du chrome hexavalent, etc.).

Bien entendu, la toxicochimie à elle seule ne résoud pas tous les problèmes. Seule une approche pluridisciplinaire (intégrant les expérimentations *in vitro* et *in vivo*, mais aussi l'épidémiologie) peut permettre d'obtenir des données pertinentes quant à la toxicité réelle de ces composés chez l'Homme. Néanmoins, l'étude de la toxicochimie des éléments inorganiques constitue un domaine de recherche ouvert et passionnant dans lequel les chimistes, les biologistes, mais aussi les biophysiciens ont un rôle essentiel à jouer.

En conclusion, il apparaît que cette approche toxicochimique peut contribuer à une meilleure mise en place de la prévention du risque chimique que ce soit pour les produits minéraux, pour les composés organiques [1, 23], mais aussi pour les dérivés organo-minéraux [24].

## Remerciements

Nous tenons à remercier M. Jean-Marie Louis (Université Paris-Sud) pour sa contribution.

## Références

- [1] Picot A., Sécurité et prévention, III - Approche chimique de la toxicologie, partie A, La toxicochimie organique, *L'Actualité Chimique*, octobre-novembre 1993, 5, p. 51-60.
- [2] Luckey T.D., Venugopal B., *Metal toxicity in mammals*, vol. 1 et 2, Plenum Publishing Corp., New York, 1977-1978.
- [3] Pearson R. G., Acids and bases, *Science*, 1963, 151, p.172-177.
- [4] Ahrland S., Chatt J., Davies N. R., The relative affinities of ligand atoms for acceptor molecules and ions, *Quarterly Rev.*, 1958, 12, p. 265-276.
- [5a] Pearson R. G., Hard and soft acids and bases, HSAB Part I, *J. Chem. Educ.*, 1968, 45, p. 581-587.
- [5b] Pearson R. G., Chemical hardness - A historical introduction, *Structure and bonding*, vol. 80, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1993, p. 1-10.
- [6] Wulfsberg G., *Principles of descriptive inorganic chemistry*, chap. 8 : The hard and soft acids-bases (HSAB), Brooks-Cole, Monterey, 1987, p. 268-305.
- [7] Skilleter D.N., To be or not to be - The story of beryllium toxicity, *Chem. Brit.*, 1990, 26, p. 26-30.
- [8] Clarkson T.W., Molecular and ionic mimicry of toxic metals, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1993, 33, p. 545-571.
- [9] Kagi J.H.R., Vasak M., Kerch K., Gilg D.E.O., Hunziker P., Bernhard W., Good M., Structure of mammalian metallothionein, *Environ. Health Perspect.*, 1984, 54, p. 93-103.
- [10] Mimoun H., *Comprehensive Coordination Chemistry*, (Wilkinson G., ed.), Pergamon Press, Oxford, 1986, p. 317-410.
- [11] Yamaguchi K., Takahara Y., Fueno T., *The role of oxygen in chemistry and biochemistry*, (Ando W. ed.), vol. 33, Elsevier, Amsterdam, 1988, p. 263-268.
- [12] Bielski B. H. J., *Free Rad. Res. Commun.*, 1991, 12-13, p. 469-477.
- [13] Cyr J. E., Bielski B. H. J., *Free Rad. Biol. & Med.*, 1991, 11, p. 157-160.
- [14] Pézerat H., *Mechanisms in fibre carcinogenesis* (Brown R. C. et coll. ed.), Plenum Press, New York, 1991, p. 387-395.
- [15] Beckman J.S. et Crow J.P., Pathological implications of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite formation, *Biochem. Soc. Trans.*, 1993, 21, p. 330-334.
- [16] Lefebvre Y. et Pézerat H., *Chem. Res. in Toxicol.*, 1992, 5, p. 461-463.
- [17] Zuberbuhler A., *Helv. Chim. Acta*, 1970, 53, p. 473-485.
- [18] Fournier J., Communication personnelle.
- [19] Huang X., Laurent P. A., Zalma R., Pézerat H., *Chem. Res. Toxicol.*, 1993, 6, p. 452-458.
- [20] Costa D., Guignard J., Pézerat H., *Toxicol. and Ind. Health*, 1989, 5, 6, p. 1079-1097.
- [21] Costa D., Guignard J., Pézerat H., *In Effects of mineral dust in cells*, vol. H30, (Mossman, B. T. and Bégin R. D. ed.), Springer-Verlag, Berlin, 1988, p. 189-196.
- [22] Picot A., Proust N., Spéciation, toxicologie et environnement : l'exemple du mercure, *Toxicorama*, 1995, VII (1), p. 39-47.
- [23] Picot A., Louis J.M., *Toxicologie moléculaire. Notions de biologie et de chimie appliquées*, Lavoisier, Paris (à paraître).
- [24] Picot A., Proust N., La Toxicochimie organo-minérale, *L'Actualité Chimique* (à paraître).