

INFLUENCE DES ACIDES HYDROXYBENZOÏQUES ET DE LEURS DERIVES IODES SUR LA RESPIRATION DES MITOCHONDRIES ISOLEES

FRANÇOIS-XAVIER GALEN, ROGER TRUCHOT et RAYMOND MICHEL

Endocrinologie, UER des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
de Paris-Luxembourg, 4, Avenue de l'Observatoire 75270 Paris
Cedex 06-Biochimie Pharmaceutique, UER des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques de Dijon, 7, Boulevard Jeanne d'Arc,
21033 Dijon Cedex, France

(Received 12 July 1973; accepted 4 October 1973)

Abstract The effects of ten benzoic acid derivatives belonging to two chemical series on rat liver mitochondrial respiration were studied. The first series included 2-hydroxybenzoic acid and its iodinated derivatives. Oxygen uptake of state 4 mitochondria with succinate or β -hydroxybutyrate as substrate was stimulated by all the compounds but the iodinated derivatives, especially 4-iodosalicylic acid were the most potent. All the compounds in this series however inhibited the oxygen consumption of mitochondria in state 3. In the presence of ascorbic acid and tetramethylphenylenediamine as respiratory substrate, salicylic acid and its iodinated derivatives had no effect. The second series included analogs of 2-hydroxybenzoic acid and some of their iodinated derivatives. Compounds with a hydroxyl group in position 3 or 4 or with an amino group in position 2 did not affect oxygen uptake of state 4 mitochondria with succinate as substrate, but a stimulation was observed with their iodinated derivatives. All the compounds inhibited the oxygen consumption of mitochondria in state 3. Similar results were obtained with β -hydroxybutyrate as substrate. Substitution by a hydroxyl group in position 2 of benzoic acid was essential therefore to uncouple oxydative phosphorylation in mitochondria. Iodination of any compound always increased respiratory properties.

LES SALICYLÉS activent les principaux métabolismes, ce qui provoque une augmentation du métabolisme basal, accompagnée d'une baisse de la glycémie et de la cholestérolémie.¹⁻³ L'élévation de la consommation d'oxygène chez l'homme⁴⁻⁷ et chez l'animal⁸⁻¹⁰ se traduit par une stimulation de la respiration des tissus hépatiques et musculaires isolés.^{11,12} Au niveau subcellulaire, les salicylés affectent les réactions oxydophosphorylantes^{13,14} puisque selon Brody^{14,15} ils se comportent en agents découplants.¹⁷⁻¹⁹

Les effecteurs des oxydophosphorylations sont nombreux et de structures très variées. L'acide salicylique peut être considéré comme un découplant²⁰ car il s'oppose à la synthèse de l'ATP par des mitochondries placées dans l'état 3. Ses effets sont analogues à ceux observés avec le dinitro-2,4 phénol (DNP),²² lequel ne modifie cependant pas la consommation d'oxygène sauf aux fortes concentrations où une inhibition se manifeste.²¹ Parmi les effecteurs des oxydophosphorylations, on trouve des phénols iodés dont l'action est multiple sur les fonctions mitochondriales.²³ Les iodothyronines par exemple activent faiblement la respiration des particules placées dans l'état contrôlé ou état 4, c'est-à-dire lorsque le milieu renferme un substrat oxyd-

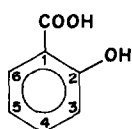
able²⁴ mais elles l'inhibent aux mêmes doses lorsque les mitochondries se trouvent dans l'état actif ou état 3, c'est-à-dire en présence d'accepteur de phosphate.²⁵ Il était donc intéressant de considérer également l'activité de l'acide salicylique iodé en diverses positions; du reste parmi les dérivés de l'acide salicylique substitués en 5, testés par Karler,²⁶ les 5-halogénés se sont montrés les découplants les plus puissants et les inhibiteurs respiratoires les plus faibles.

Nous nous sommes proposé d'étudier systématiquement l'activité de dérivés iodo-salicylés, dont nous avons effectué la synthèse antérieurement,²⁷ puis d'analogues structuraux hydroxy et aminobenzoïques iodés; en comparant leurs effets à ceux des précurseurs non halogénés correspondants, nous avons essayé de relier les structures des acides benzoïques ortho substitués, et des autres acides iodophénoliques à leur activité respiratoire et découplante.

PARTIE EXPERIMENTALE

1. *Nature des composés iodés.* Les produits utilisés dérivent de l'acide benzoïque substitué par les radicaux hydroxyle ou amine.

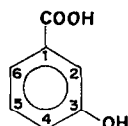
I. Dérivés de l'acide hydroxy-2 benzoïque ou acide salicylique—la substitution par l'iode a lieu en 4, 5 ou 3,5.



—acide iodo-4 salicylique
—acide iodo-5 salicylique
acide diiodo-3,5 salicylique

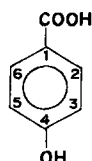
II. Dérivés des analogues structuraux de l'acide salicylique.

(a) Dérivé de l'acide hydroxy-3 benzoïque—la substitution iodée est en 5



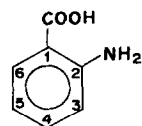
acide iodo-5 hydroxy-3 benzoïque

(b) Dérivé de l'acide hydroxy-4 benzoïque—la disubstitution iodée est en 3,5



acide diiodo-3,5 hydroxy-4 benzoïque

(c) Dérivé de l'acide amino-2 benzoïque ou acide anthranilique—le substituant iodé est en 5.



acide iodo-5 amino-2 benzoïque

2. *Mesure des activités mitochondriales.* Les mitochondries hépatiques de rat sont préparées selon la méthode de Schneider et Hogeboom modifiée.^{28,29} Elles sont conservées dans le saccharose 0.25 M, la suspension mitochondriale renfermant 40 à 50 mg de protéines par millilitre. La consommation d'oxygène provoquée par l'addi-

tion des mitochondries (2 mg par essai) est mesurée dans les états thermodynamiques 3 et 4 au moyen d'un oxygraphe GME à électrode de platine vibrante recouverte d'une membrane de téflon. Les expériences sont conduites à 25 dans un milieu tamponné à pH 7.35 renfermant les sels minéraux aux concentrations suivantes: KH_2PO_4 3 mM; K_2HPO_4 13 mM; NaCl 26 mM; KCl 58 mM; MgCl_2 6 mM; NaF 12 mM. Les trois substrats oxydables choisis en fonction du nombre de sites de phosphorylation qu'ils mettent en jeu sont soit le β -hydroxybutyrate 13.2 mM, soit le succinate 6 mM en présence de roténone 1,5 μM , soit l'ascorbate 3,3 mM avec la tétraméthylparaphénylène-diamine (TMPD) 1,5 μM en présence d'antimycine A 1,2 μM . Les effecteurs étudiés sont introduits en solution sous un volume n'excédant pas 0.05 ml en cours d'enregistrement de la pente respiratoire, en état contrôlé, ou de la pente correspondant à la phosphorylation consécutive à l'addition de l'ADP 320 μM , en état actif. Le volume final du liquide d'incubation dans la cellule oxygraphique est de 1,6 ml environ pour chaque essai.

RESULTATS

Les tracés oxygraphiques ont permis de déterminer les vitesses de consommation d'oxygène des mitochondries placées dans diverses conditions expérimentales. Les vitesses sont indiquées sur les différents tableaux, lesquels comportent également les effets de chaque produit exprimés en pourcentage et calculés en faisant le rapport

$$\frac{\text{vitesse respiratoire avec produit}}{\text{vitesse respiratoire avec solvant}} \times 100$$

quel que soit l'état thermodynamique des particules. La valeur 100 indique que le produit n'affecte pas la respiration mitochondriale, tandis que les valeurs supérieures

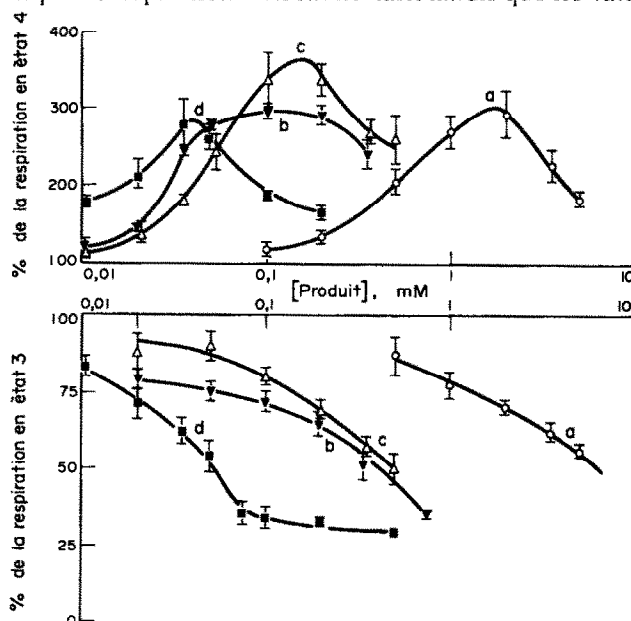


FIG. 1. Courbes comparant l'influence des acides salicylique (a), iodo-4 salicylique (b), iodo-5 salicylique (c) et diiodo-3.5 salicylique (d) sur la respiration des mitochondries hépatiques de Rat oxydant le β -hydroxybutyrate en état 4 et en état 3.

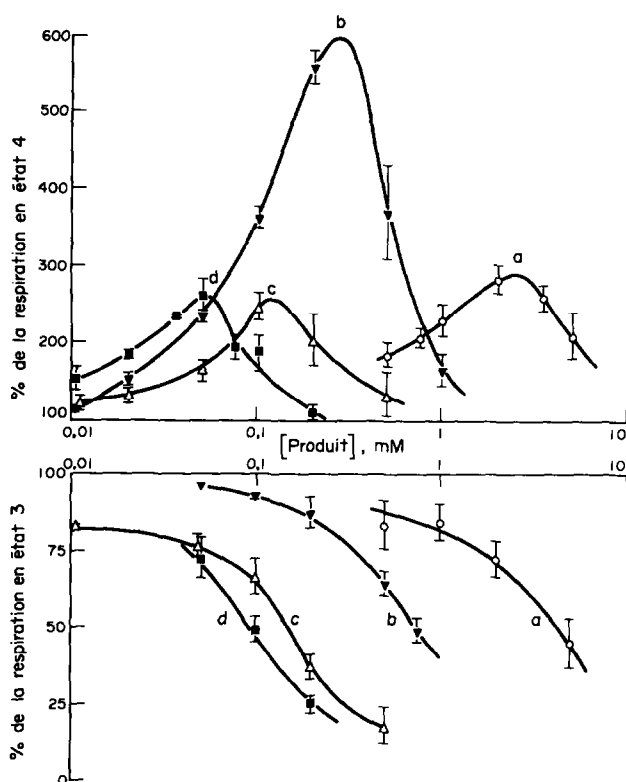


FIG. 2. Courbes comparant l'influence des acides salicylique (a), iodo-4 salicylique (b), iodo-5 salicylique (c) et diiodo-3,5 salicylique (d) sur la respiration des mitochondries hépatiques de Rat oxydant le succinate en état 4 et en état 3.

ou inférieures à 100 traduisent respectivement une stimulation ou une inhibition. Les Figs. 1 et 2 illustrent d'ailleurs ces faits.

1. *Iodosalicylés*. L'influence de l'acide salicylique et de ses dérivés iodés sur la respiration mitochondriale en présence des différents substrats et dans les états contrôlé et actif fait l'objet du Tableau 1. Aucun de ces produits n'a d'effet significatif lorsque le substrat oxydable est l'ascorbate TMPD. Par contre, en présence de β -hydroxybutyrate ou de succinate, les acides iodo-4 et iodo-5 salicyliques et l'acide diiodo-3,5 salicylique augmentent la vitesse respiratoire en état 4, pour des concentrations de 10 à 40 fois plus faibles que l'acide salicylique lui-même. Ils inhibent aux mêmes doses la respiration des mitochondries placées en état 3, et les rapports P/O sont abaissés. Ainsi, en présence de succinate P/O s'abaisse de 1.8 à 0.7 sous l'effet de l'acide iodo-4 salicylique 0.05 mM.

La représentation logarithmique des Figs. 1 et 2 permet de comparer les courbes dose-réponse de l'acide salicylique et de ses dérivés iodés, sur l'oxydation mitochondriale du β -hydroxybutyrate ou du succinate dans les deux états respiratoires. En présence de succinate, l'acide iodo-4 salicylique active très fortement la respiration à l'état contrôlé (600 pour-cent), tandis que les deux autres iodosalicylés et le salicylate atteignent 200 pour-cent environ d'effet maximum. On observe que l'oxydation du β -hydroxybutyrate est augmentée de manière similaire par les différents produits

TABLEAU 1. EFFETS COMPARÉS DE L'ACIDE SALICYLIQUE ET DE SES DÉRIVÉS IODÉS SUR LA RESPIRATION DES MITOCHONDRIES HÉPATIQUES DE RAT OXYDANT DIFFÉRENTS SUBSTRATS DANS L'ÉTAT CONTRÔLÉ (E 4) ET DANS L'ÉTAT ACTIF (E 3)

Produit	Concn (mM)	Vitesse respiratoire					
		β -Hydroxybutyrate		Succinate		Ascorbate T'MPD	
		E 4	E 3	E 4	E 3	E 4	E 3
Acide salicylique	0	4,5 \pm 1,0	15,5 \pm 0,9	7,6 \pm 1,6	37,6 \pm 2,7	22,2 \pm 0,7	26,0 \pm 0,5
	2	11,6 \pm 1,5 ^(a)	10,7 \pm 0,5 ^(b)	20,4 \pm 3,7 ^(b)	26,7 \pm 1,8 ^(a)	24,0 \pm 1,0 ^(NS)	27,0 \pm 1,0 ^(NS)
Acide iodo-4 salicylique	0	3,8 \pm 0,2	17,3 \pm 2,8	7,2 \pm 1,1	38,1 \pm 3,3	27,0 \pm 5,0	27,0 \pm 3,0
	0,2	10,6 \pm 1,1 ^(a)	11,2 \pm 1,6 ^(b)	39,0 \pm 5,4 ^(a)	33,1 \pm 3,3 ^(a)	31,2 \pm 6,2 ^(NS)	27,0 \pm 3,0 ^(NS)
Acide iodo-5 salicylique	0	2,9 \pm 0,4	14,5 \pm 1,3	9,7 \pm 0,7	46,4 \pm 7,2	29,0 \pm 1,0	33,0 \pm 2,0
	0,1	9,4 \pm 0,8 ^(a)	11,6 \pm 1,4 ^(b)	24,2 \pm 2,5 ^(a)	30,3 \pm 5,1 ^(b)	31,7 \pm 3,7 ^(NS)	33,0 \pm 2,0 ^(NS)
Acide diiodo-3,5 salicylique	0	2,7 \pm 0,2	11,1 \pm 0,9	9,0 \pm 0,6	33,1 \pm 2,6	29,0 \pm 1,0	37,0 \pm 2,0
	0,05	6,9 \pm 0,5 ^(a)	6,1 \pm 0,9 ^(a)	23,4 \pm 1,8 ^(a)	23,0 \pm 1,3 ^(a)	32,0 \pm 4,0 ^(NS)	38,0 \pm 3,0 ^(NS)

Les vitesses respiratoires sont exprimées en nmoles $O_2 \times mn^{-1}$ pour 1 mg de protéines mitochondriales dans 1 ml. Ces valeurs représentent la moyenne \pm l'écart type à la moyenne pour 5 ou 6 déterminations; la signification est calculée par le test de *t* de Student, appliqué aux séries appariées (méthode des couples). (NS) non significatif; (a) $P < 0,05$; (b) $P < 0,01$ et (c) $P < 0,001$.

TABLEAU 2. EFFETS DES ACIDES HYDROXY ET AMINO BENZOÏQUES, COMPARÉS À CEUX DE LEURS DÉRIVÉS IODÉS SUR LA RESPIRATION CONTRÔLÉE ET ACTIVÉE DES MITOCHONDRIES HÉPATIQUES DE RAT EN PRÉSENCE DE β -HYDROXYBUTYRATE COMME SUBSTRAT

Produit	Etat contrôlé			Etat actif		
	Concn (mM)	Vitesse	Respiration Effet (%)	Concn (mM)	Vitesse	Respiration Effet (%)
Acide hydroxy-3 benzoïque	0	3,7 \pm 0,3		0	13,0 \pm 1,4	
	7,5	3,9 \pm 0,2 ^(NS)		2,0	5,6 \pm 0,7 ^(a)	42 \pm 2
Acide iodo-5 hydroxy-3 benzoïque	0	2,9 \pm 0,3		0	12,4 \pm 1,3	
	2,0	4,6 \pm 0,5 ^(a)	154 \pm 13	0,75	7,1 \pm 0,9 ^(a)	56 \pm 2
Acide hydroxy-4 benzoïque	0	4,1 \pm 0,9		0	13,8 \pm 1,2	
	7,5	5,1 \pm 1,3 ^(NS)		5,0	5,1 \pm 0,8 ^(a)	36 \pm 3
Acide diiodo-3,5 hydroxy-4 benzoïque	0	3,5 \pm 0,5		0	14,6 \pm 0,7	
	0,75	6,2 \pm 1,2 ^(a)	174 \pm 18	0,5	6,3 \pm 0,4 ^(c)	43 \pm 2
Acide amino-2 benzoïque	0	3,4 \pm 0,3		0	12,2 \pm 1,2	
	7,5	4,0 \pm 0,4 ^(a)	126 \pm 9	7,5	8,6 \pm 1,7 ^(b)	68 \pm 7
Acide iodo-5 amino-2 benzoïque	0	3,4 \pm 0,6		0	12,4 \pm 1,6	
	0,75	6,4 \pm 0,8 ^(b)	191 \pm 16	0,75	7,4 \pm 1,3 ^(b)	59 \pm 3

Les vitesses respiratoires sont exprimées en nmol $O_2 \times \text{min}^{-1}$ pour 1 mg de protéines mitochondriales dans 1 ml. Ces valeurs représentent la moyenne \pm l'écart type à la moyenne de 5 ou 6 déterminations; la signification est calculée par le test de *t* de Student, appliqué aux séries appariées (méthode des couples). (NS) non significatif; (a) $P < 0,05$; (b) $P < 0,01$ et (c) $P < 0,001$.

TABLÉAU 3. EFFETS DES ACIDES HYDROXY ET AMINO BENZOÏQUES, COMPARÉS À CEUX DE LEURS DÉRIVÉS IODÉS SUR LA RESPIRATION CONTRÔLÉE ET ACTIVÉE DES MITOCHONDRIES HÉPATIQUES DE RAT, EN PRÉSENCE DE SUCCINATE COMME SUBSTRAT

Produit	État contrôlé E 4				État actif E 3		
	Concn (mM)	Vitesse	Respiration	Effet (%)	Concn (mM)	Vitesse	Respiration
Acide hydroxy-3 benzoïque	0 10	8,1 ± 0,8 8,8 ± 1,1 ^(NS)			0 7,5	33,9 ± 4,6 19,2 ± 3,9 ^(b)	
Acide iodo-5 hydroxy-3 benzoïque	0 2,0	9,5 ± 1,6 13,9 ± 3,0 ^(a)	142 ± 8		0 1,0	41,2 ± 7,3 26,9 ± 5,3 ^(b)	62 ± 2
Acide hydroxy-4 benzoïque	0 7,5	9,8 ± 3,2 9,9 ± 3,1 ^(NS)			0 7,5	38,8 ± 5,7 20,0 ± 3,9 ^(b)	51 ± 5
Acide diiodo-3,5 hydroxy-4 benzoïque	0 0,75	10,9 ± 2,6 14,1 ± 2,9 ^(a)	138 ± 13		0 0,5	44,9 ± 7,6 19,7 ± 4,0 ^(b)	43 ± 2
Acide amino-2 benzoïque	0 7,5	9,6 ± 1,8 10,3 ± 1,6 ^(NS)			0 7,5	46,5 ± 6,1 20,7 ± 2,7 ^(a)	44 ± 1
Acide iodo-5 amino-2 benzoïque	0 0,75	11,0 ± 1,3 14,5 ± 1,9 ^(b)	130 ± 3		0 0,5	43,3 ± 3,2 20,4 ± 3,1 ^(a)	46 ± 4

Les vitesses respiratoires sont exprimées en nmoles $O_2 \times \text{mn}^{-1}$ pour 1 mg de protéines mitochondriales dans 1 ml. Ces valeurs représentent la moyenne \pm l'écart type à la moyenne de 5 ou 6 déterminations; la signification est calculée par le test de t de Student, appliqué aux séries appariées (méthode des couples). (NS) non significatif; (a) $P < 0,05$; (b) $P < 0,01$ et (c) $P < 0,001$.

TABLEAU 4. CONCENTRATIONS COMPARÉES DE L'ACIDE SALICYLIQUE, DE SES ANALOGUES STRUCTURAUX ET DE LEURS DÉRIVÉS IODÉS, QUI PROVOQUENT L'ACTIVATION MAXIMALE DANS L'ÉTAT CONTRÔLÉ, ET L'INHIBITION 50% DANS L'ÉTAT ACTIF, DE LA RESPIRATION DE MITOCHONDRIES HÉPATIQUES DE RAT, OXYDANT LE β -HYDROXYBUTYRATE ET LE SUCCINATE

Produit	Concn (mM)			
	β -Hydroxybutyrate		Succinate	
	Activation max. E 4	Inhibition 50% E 3	Activation max. E 4	Inhibition 50% E 3
Acide salicylique	1.8	6.6	2.5	4.1
Acide iodo-4 salicylique	0.15	0.45	0.30	0.73
Acide iodo-5 salicylique	0.19	0.49	0.12	0.16
Acide diiodo-3,5 salicylique	0.037	0.051	0.055	0.08
Acide hydroxy-3 benzoïque		1.1		7.9
Acide iodo-5 hydroxy-3 benzoïque	2.6	0.9	2.8	1.8
Acide hydroxy-4 benzoïque		2.4		7.1
Acide diiodo-3,5 hydroxy-4 benzoïque	0.82	0.28	0.60	0.43
Acide amino-2 benzoïque	7.7	9.7		6.5
Acide iodo-5 amino-2 benzoïque	0.75	0.95	0.67	0.43

Ces données sont déduites des courbes expérimentales représentant l'effet sur la consommation d'oxygène en fonction de la concentration en produit. Les valeurs expriment la moyenne obtenue pour 5 à 6 déterminations.

(200 à 280 pour-cent), le maximum d'activation étant obtenu pour des doses 50 fois plus faibles avec l'acide diiodo-3,5 salicylique qu'avec l'acide salicylique. En état actif, l'inhibition 50 pour-cent de l'oxydation des deux substrats est obtenue avec les dérivés halogénés pour des concentrations variables mais toujours inférieures à celles de l'acide salicylique; parmi les iodosalicylés, l'acide diiodo-3,5 salicylique se révèle le plus puissant inhibiteur respiratoire.

2. *Analogues structuraux de l'acide salicylique.* Les résultats rassemblés dans les Tableaux 2 et 3 montrent que parmi les composés non halogénés, les acides hydroxy-3 et hydroxy-4 benzoïques n'ont aucun effet significatif sur la vitesse respiratoire des mitochondries oxydant le β -hydroxybutyrate ou le succinate en état 4, même à des doses élevées; seul l'acide amino-2 benzoïque 7,5 mM stimule la respiration contrôlée de particules placées en présence de β -hydroxybutyrate. Par contre, ces trois analogues structuraux de l'acide salicylique inhibent de manière hautement significative ($P < 0,01$ et $P < 0,001$) l'état actif pour des concentrations (2 à 7,5 mM) voisines de celle de l'acide salicylique (5 mM) produisant un effet identique (inhibition d'environ 50 pour-cent); même aux doses étudiées, le rapport P/O reste inchangé en présence des deux substrats.

Les dérivés iodés des acides hydroxy-3 et hydroxy-4 benzoïques et l'acide iodo-5 amino-3 benzoïque activent l'état 4 et inhibent l'état 3 en présence des deux substrats, et ceci pour des doses inférieures à celles de leurs précurseurs non iodés. L'inhibition respiratoire s'accompagne alors d'une diminution du rapport P/O qui passe de 1,9 à 1,4 avec l'acide iodo-5 hydroxy-3 benzoïque 1 mM en présence de succinate.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Une constatation générale ressort de nos expériences: tous les corps étudiés ont une action analogue sur des mitochondries oxydant le β -hydroxybutyrate et le succinate, mais ils sont sans effet en présence d'un substrat artificiel comme l'ascorbate-TMPD, lequel cède ses électrons au niveau du cytochrome c_1 .

Si l'on classe les substances selon leurs analogies structurales, les résultats obtenus indiquent cependant que certaines différences quantitatives se manifestent.

1. L'examen des Tableaux 1, 2 et 3 montre que, pour les produits non iodés, la structure acide orthophénol de l'acide salicylique est nécessaire à la manifestation des propriétés découplantes, alors que la substitution phénolique en méta ou para conduit à des produits inactifs sur l'état contrôlé. La substitution de la fonction phénol en 2 par la fonction amine supprime pratiquement l'effet découplant.

En revanche, tous les produits non halogénés testés, inhibent l'état 3 pour des doses voisines, le rapport P/O n'étant abaissé pour ceux qui provoquent une activation significative de l'état 4. La transposition de la fonction orthophénol en position 3 ou 4 permet donc de dissocier les effets, découplant et inhibiteur respiratoire des acides hydroxybenzoïques.

2. Les effets des produits iodés sur la respiration mitochondriale, sont rapportés par les Tableaux 1 et 4 en ce qui concerne les acides iodosalicyliques et 2, 3 et 4 pour les autres dérivés.

Il apparaît que les concentrations des acides iodosalicyliques qui provoquent l'activation maximale de l'état 4 et l'inhibition 50 pour-cent de l'état 3 sont 10 fois inférieures pour les composés 5 ou 4 monoiodés et 50 à 100 fois inférieures pour le dérivé diiodé en 3,5, par rapport aux concentrations de l'acide salicylique qui produisent

les mêmes réponses en présence de β -hydroxybutyrate et de succinate, mais ils sont tous inefficaces avec le mélange ascorbate TMPD. Il semble que les atomes d'iode potentialisent l'activité respiratoire de l'acide salicylique en présence des deux premiers substrats.

Pour les acides iodo-5 hydroxy-3 benzoïque et diiodo-3,5 hydroxy-4 benzoïque, les doses inhibitrices 50 pour-cent de l'état 3 se trouvent également abaissées dans un rapport 4 à 10 par l'iodation; mais l'halogène confère de plus des propriétés découplantes aux compourtant inactifs sur l'état 4.

Enfin l'acide iodo-5 2 benzoïque possède un comportement intermédiaire entre ces deux classes de produit, puisqu'il réagit comme les iodosalicylés en présence de β -hydroxybutyrate et comme les acides hydroxy-3 ou hydroxy-4 benzoïques iodés lorsque le milieu renferme du succinate.

3. Les dérivés iodés du salicylate possèdent donc les propriétés découplantes reconnues aux salicylés, puisque comme le dinitro-2,4 phénol, ils activent l'état contrôlé. Cependant, contrairement aux résultats obtenus avec le DNP, dont la dose inhibitrice de l'état 3 est beaucoup plus élevée que celle qui active l'état 4,²¹ on note avec les dérivés salicylés une concordance entre les concentrations stimulant l'état contrôlé et frénatrice de l'état actif. Ces données présentent une similitude avec celles des iodothyronines pour lesquelles l'activation de l'état 4 et l'inhibition de 50 pour-cent de la respiration en présence d'ADP sont obtenues avec des doses voisines.²⁴

Il est probable que, comme pour les phénols iodés, les phénomènes observés avec les iodosalicylés sont la résultante de deux phénomènes: stimulation respiratoire due à un découplage et inhibition des réactions de transfert des électrons avec les particules fortement couplées.

En conclusion, il ressort de l'ensemble de notre travail que les iodosalicylés agissent *in vitro* sur les mécanismes des oxydophosphorylations mitochondriales, ce qui les rapproche d'autres iodophénols,^{24,25} mais aussi des acides salicylique⁷ ou acétylsalicylique.^{30,31}

Une fonction phénol libre activée par des substituants est nécessaire pour que les propriétés découplantes se manifestent. L'intensité des réponses dépend du pK phénolique³² et du caractère lipophile de la molécule.³³ En ce qui concerne les acides iodosalicyliques, nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs,³⁴ qui suggèrent que les groupements qui augmentent le caractère énolique des salicylés et leur confèrent une solubilité dans les lipides peuvent être impliqués dans la manifestation des propriétés découplantes de ces molécules. C'est particulièrement le cas des substituants iodés puisque Karler a montré que l'acide iodo-5 salicylique est plus actif que l'acide chloro-5 salicylique.²⁶

Il est difficile, à la suite de notre travail, de rapprocher les résultats expérimentaux obtenus *in vitro* sur des mitochondries isolées, des effets antiinflammatoires constatés au cours de travaux antérieurs. On peut observer toutefois que l'acide iodo-4 salicylique, qui provoque une régression de l'arthrite expérimentale chez le Rat plus intense que l'acide salicylique, est l'un des composés qui affectent le plus fortement les mécanismes des oxydations phosphorylantes.

BIBLIOGRAPHIE

1. C. LUTWAK-MANN, *Biochem. J.*, **36**, 706 (1942).
2. G. M. COMULADA, P. CARLO et P. K. SMITH, *Fedn Proc.*, **12**, 313 (1953).

3. M. J. H. SMITH, *J. biol. Chem.* **234**, 144 (1959).
4. S. M. TENNEY et R. M. MILLER, *Am. J. Med.* **19**, 498 (1956).
5. B. S. HETZEL, J. S. CHARNOCK et H. LANDER, *Metabolism* **8**, 205 (1959).
6. K. WALTNER, B. TANOS et E. KELENEN, *Acta Med. Acad. Sci. Hung.* **12**, 147 (1958).
7. J. B. COCHRAN, *Br. Med. J.* **2**, 964 (1952).
8. B. W. MEADE, *Ann. Rheum. Dis.* **13**, 60 (1954).
9. A. C. L. HSIEH et C. C. CHIU, *Br. J. Pharmac.* **14**, 219 (1959).
10. J. REID, *Scot. Med. J.* **2**, 91 (1957).
11. D. H. SPROULL, *Br. J. Pharmac.* **9**, 262 (1954).
12. J. T. FISHGOLD, J. FIELD et V. E. HALL, *Am. J. Physiol.* **164**, 727 (1951).
13. W. F. LOOMIS et F. LIPMANN, *J. biol. Chem.* **173**, 807 (1948).
14. T. M. BRODY, *Pharmacol. Rev.* **7**, 335 (1955).
15. T. M. BRODY, *J. Pharmac. exp. Ther.* **116**, 39 (1956).
16. M. J. H. SMITH et S. W. JEFFREY, *Biochem. J.* **63**, 524 (1956).
17. R. PENNIAL, G. KALNITSKY et J. I. ROUTH, *Archs. Biochem. Biophys.* **64**, 390 (1956).
18. I. BOSUND, *Acta chem scand.* **11**, 541 (1957).
19. J. S. CHARNOCK, L. J. OPIT et V. S. HETZEL, *Biochem. J.* **83**, 602 (1962).
20. J. T. MIYAHARA et R. KARLER, *Biochem. J.* **97**, 194 (1965).
21. H. C. HENKER, *Biochim. biophys. Acta* **81**, 1 (1964).
22. M. J. H. SMITH, *J. Pharm. Pharmac.* **11**, 705 (1959).
23. F. L. HOCH, *Archs. Biochem. Biophys.* **124**, 238 (1968); *J. biol. Chem.* **24**, 524 (1966).
24. J. ROCHE, R. MICHEL et A. LEBLANC, *C.r. Acad. Sci.* **260**, 1497 (1965).
25. B. CHANCE et C. R. WILLIAMS, *Adv. Enzymol.* **17**, 65 (1965).
26. R. KARLER, W. C. PETTY et T. S. SULKOWSKI, *Arch. Int. Pharm. Ther.* **173**, 270 (1968).
27. R. TRUCHOT, Thèse d'Etat en Pharmacie, Lyon (1957).
28. W. C. SCHNEIDER et HOGEBOOM, *J. biol. Chem.* **183**, 123 (1950).
29. J. ROCHE, J. E. RALL, R. MICHEL, O. MICHEL et S. VARRONE, *Biochim. biophys. Acta*, **56**, 188 (1962).
30. L. THOMPSON et K. H. LEE, *J. Pharm. Sci.* **58**, 102 (1969).
31. M. A. MEHLMAN, R. B. TOBIN et E. M. SPORN, *Biochem. Pharmac.* **21**, 3279 (1972).
32. V. H. PARKER, *Biochem. J.* **69**, 306 (1958).
33. I. F. SKIDMORE et M. W. WHITEHOUSE, *Biochem. Pharmac.* **14**, 557 (1965).
34. J. F. BURKE et M. W. WHITEHOUSE, *Biochem. Pharmac.* **14**, 1039 (1965).

Résumé—Les recherches ont consisté à étudier les effets exercés sur les oxydophosphorylations de mitochondries isolées de foie de Rat, par dix acides benzoïques substitués appartenant à deux séries chimiques. Les substances de la première série comprenant l'acide hydroxy-2 benzoïque et ses dérivés iodés, stimulent fortement la vitesse respiratoire des mitochondries placées en état 4 en présence de succinate ou de β -hydroxybutyrate; les produits halogénés, surtout l'acide iodo-4 salicylique, étant les plus efficaces. Tous ces composés inhibent la consommation d'oxygène lorsque les particules se trouvent en état 3. En présence d'ascorbate tétraméthyl-paraphénylène-diamine comme substrat, ils n'affectent pas la respiration de façon significative. La deuxième série comporte des analogues structuraux de l'acide hydroxy-2 benzoïque et certains de leurs dérivés iodés. Les acides hydroxy-3, hydroxy-4 et amino-2 benzoïque sont sans effet sur la respiration en état 4 succinate, tandis que leurs dérivés iodés la stimulent. Tous les composés freinent la consommation d'oxygène des mitochondries en état 3. Des résultats similaires sont obtenus avec le β -hydroxybutyrate comme substrat. En conclusion, il apparaît nécessaire que l'acide benzoïque soit substitué en position 2 par l'hydroxyle pour qu'un composé découple les phosphorylations des oxydations mitochondriales. Mais l'iodation exalte toujours les réponses respiratoires quelle que soit la position du substituant et, plus particulièrement, dans le cas de l'acide iodo-4 salicylique.