

QUELQUES DONNEES SUR L'INHIBITEUR NATUREL DE PEPSINE, EXTRAIT ET PURIFIE DU  
GASTEROPODE MARIN RAPANA THOMASIANA GROSSE

Natalia Rosciu.

Institut Roumain de Recherches Marines, Constantza-Roumanie

ABSTRACT

A natural inhibitor of pepsin, developing an intensive antipeptic activity, was separated and purified from the marine gastropod Rapana thomasiana Grosse. This inhibitor is of peptidic nature, reacts almost instantaneously with the enzyme and causes an inhibition of the noncompetitive types as related to the hemoglobin used as a substrate. The inhibition developed is a function of the inhibitor concentration in the reaction medium and does not depend on the purity of the preparation used.

Dans le travail présent, on expose quelques données sur l'inhibiteur naturel de pepsine isolé et purifié du gastéropode marin Rapana thomasiana Grosse. On a déterminé l'activité enzymatique et d'inhibition de la pepsine conformément aux méthodes décrites par ROSOIU et al. (1981, 1982), en utilisant l'hémoglobine comme substrat. En étudiant la distribution par organes et tissus de l'activité antipeptidique chez Rapana thomasiana, on a constaté une intense activité d'inhibition de la pepsine dans tous les organes et tissus investigués. Ainsi, le taux d'inhibition de la pepsine varie entre 79,8 % (pied) et 100 % (glandes salivaires, glandes vitellogènes, estomac, rein et testis). Le taux d'inhibition de la pepsine standard par les extraits protéiques obtenus du corps entier fut de 81,3 %.

La capacité d'inhibition de la pepsine par l'effecteur se maintient à des valeurs comprises entre 90 et 100 %, pour des concentrations de l'inhibiteur variant entre 3,4 et 0,2 mg/ml à une concentration de pepsine standard de 4 mg/ml.

Au cours des expériences où l'on a maintenu une quantité constante d'inhibiteur (0,2 mg/ml), et où l'enzyme variait entre 2 et 40 mg/ml, on a mieux mis en relief l'intense capacité d'inhibition de la pepsine. C'est ainsi que l'on a constaté que seulement 0,2 mg d'inhibiteur inhibe entièrement, au taux de 100 %, 22 mg de pepsine Merck.

En observant l'action en temps de l'inhibiteur sur la pepsine, par incubation de la solution d'enzyme standard avec la solution d'inhibiteur pendant 0, 5, 10, 15, ...60 minutes, dans toutes les variantes expérimentées on a constaté une inhibition de 100 % de la pepsine, c'est-à-dire que l'inhibiteur a une action presque instantanée sur l'enzyme, n'ayant pas besoin de temps pour accomplir la réaction d'inhibition. Le diagramme Lineaweaver-Burk ( $I/v$  fonction de  $I/(S)$ ), pour la réaction cinétique de la pepsine en absence et en présence de l'inhibiteur naturel isolé et purifié de Rapana thomasiana, a indiqué une inhibition non compétitive de l'effecteur, et a permis de déterminer les constantes Michaelis ( $K$  et  $K'$ ) et la constante d'inhibition  $K_i$ . Les constantes Michaelis ont été calculées à partir des valeurs  $-I/K$  et  $-I/K'_i$ , résultées de l'intersection de l'axe  $x$  par les droites obtenues de la transposition graphique des données expérimentales dans l'équation Lineaweaver-Burk:  $I/v = f(I/(s))$ . La constante d'inhibition a été déduite de la relation:  $k'_m = k_m / (1 + i/K_i)$  caractéristique pour l'inhibition non compétitive, où  $i$  est la concentration de l'inhibiteur du milieu de réaction (dans notre cas,  $i = 0,0625$  mg/ml). De cette façon, on a obtenu les valeurs ci-après:  $k_m = 8,33$  g/l;  $k'_m = 1,05$  g/l et  $k_i = 0,009$  g/l.

Les données préliminaires concernant la détermination de la nature de l'inhibiteur prouvent la nature peptique de celui-ci, ayant une chaîne courte d'acides aminés, parmi lesquels prédomine la lysine, la sérine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, la proline et la phénylalanine.

L'inhibition manifestée est dépendante de la concentration de l'inhibiteur du milieu de réaction, sans tenir compte de la pureté du produit utilisé.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ROSOIU N., SERBAN M., PANAIT M., 1981. Détermination of some natural inhibitors of pepsine, trypsin and chymotrypsin in several invertebrate and fish species along the Romanian coast of the Black Sea, Recherches marines, 14 : 223-227.
- ROSOIU N., SERBAN M., PANAIT M., 1982. Some properties of the pepsin natural inhibitor extracted from the marine gastropode Rapana thomasiana Grosse, Recherches marines, 15 : 235-243.
- ROSOIU N., SERBAN M., 1983. Mise en évidence de certains effecteurs naturels de la pepsine, la trypsin et la chymotrypsine chez quelques espèces d'invertébrés et de poissons. Rapp.Comm.int.Mer Médit., 28, 8:73-74.