

PEROXYDATION DE L'HUILE PHARMACEUTIQUE
EXTRAITE DU FOIE DU REQUIN *SQUALUS ACANTHIAS*

Maria MIRZA⁽¹⁾ et Mariana SURMEIAN⁽²⁾

- (1) Institut Roumain de Recherches Marines, Constantza (Roumanie)
(2) Institut de Recherches Chimico-Pharmaceutiques, Bucarest (Roumanie)

SUMMARY :

The peroxidation of pharmaceutical oil from liver of *Squalus acanthias* was determined at 60°C in air and in the presence of different physico-chemical factors : light, dark, temperature, traces of oxidated oil, organic traces, reduced Fe²⁺, humidity, Na₂SO₄ sicc. and PVC package.

Les recherches ont été effectuées sur des échantillons d'huile préparés selon une méthode originale. L'étude de la peroxydation a été suggérée par des nécessités pratiques surgies des dernières recherches en biologie et en médecine, qui ont mis en évidence que les peroxydes lipidiques s'accumulent dans les ischémies cardiaques, le choc traumatique, les cataractes et d'autres rétinopathies, la silicose, l'insuffisance hépatique, le diabète, la dystrophie musculaire. On a mis en relief aussi l'effet carcinogénique des peroxydes par l'intermédiaire des époxydes (1).

L'huile pharmaceutique obtenue du foie de *Squalus acanthias* a présenté les caractéristiques physico-chimiques suivantes, déterminées conformément à la pharmacopée roumaine (édition IX) : liquide huileux, limpide à la température ordinaire, de couleur jaune-orange, miscible avec l'éther en n'importe quelle proportion, ainsi qu'avec le chloroforme et le dichloréthane; densité D₂₀²⁰ 0,910, point de solidification -5°C; indice de réfraction n_D²⁰ 1,476; indice d'acidité 0,3; indice de saponification 165,5; indice d'iode 140; substances insaponifiables 10%; indice de peroxyde 0,5; métaux lourds 0,001%, vitamine A 140 mg%; acides gras (dosage par chromatographie gazeuse) : acide miristique 3,4%; acide palmitique 19,0%; acide palmitoléique 13,9%; acide stéarique 18%; acide oléique 26,3%; acide linoléique 0,9%; acide linoléique 0,57%; acide eicosanoïque 10%, acide docosahexaénoïque 5%. La structure chimique est semblable à celle des huiles obtenues à partir d'autres espèces de poissons élasmobranches (2,3).

La peroxydation des acides gras de l'huile du foie de requin se produit avec des vitesses difficilement perceptibles à la température ordinaire; c'est pourquoi les études ont été effectuées en conditions de vieillissement accéléré à 60°C à l'air, à l'obscurité. Dans ces conditions, la cinétique de la peroxydation présente une période latente d'induction d'environ 20 heures, une période de 95 heures de propagation (lorsque se fixent 30 g O₂/kg), ainsi qu'une période finale, quand le phénomène a tendance à atteindre un plafond. Après 150 heures de vieillissement, l'indice de peroxyde (Ip) augmente 112 fois (de 0,5 à 56), et l'indice d'acidité (Ia) 5,3 fois (de 0,3 à 1,6).

L'oxydation de l'huile est fortement catalysée par la présence du fer réduit, de pureté spectrale. Après 120 heures de vieillissement les échantillons de fer étaient couverts d'une grosse couche de rouille (Fe²⁺), bien qu'ils soient complètement immergés dans l'huile. Durant cet intervalle, Ip et Ia ont atteint respectivement les valeurs de 138 et 1,8.

Les variantes avec : a)huile fraîche, b)huile en mélange avec des restes d'huile rance (0,1%), c)huile déposée en récipient ouvert en PVC, d)huile filtrée sur une couche épaisse de Na₂SO₄ anhydre - toutes vieilles, ont eu, 120 heures après, les valeurs respectives de Ip et Ia suivantes : 90-1,2; 78-1,6; 142-1,3; 60-1,3.

On a déterminé l'action catalytique de la lumière solaire sur l'oxydation de l'huile de requin en exposant les échantillons pendant 35 minutes, à la lumière solaire directe, puis au vieillissement à l'air à 60°C et à l'obscurité. Après 120 heures les valeurs enregistrées furent Ip = 130; Ia = 2,0.

La catalyse de la peroxydation de l'huile, sous l'influence de la lumière solaire directe, est diminuée par la présence conjointe, dans le milieu de réaction, du fer réduit et des restes d'huile oxydée, l'expérience étant effectuée dans les conditions ci-dessus. Les indices Ip et Ia, 120 heures après, furent respectivement de 98 et 1,5.

L'effet inhibiteur de la superoxydismutase a été mis en évidence en ajoutant des restes de foie frais aux composantes de l'expérimentation antérieure. Les valeurs Ip et Ia, 120 heures après, furent respectivement de 45 et 2,5.

Les températures jusqu'à 90°C ont une action stimulante sur la peroxydation de l'huile de requin; celles supérieures à 100°C entraînent la destruction des peroxydes en atmosphère azotée. On a soumis des échantillons d'huile de requin, avec l'indice de peroxyde 20, à des températures de 100°C, 120°C et 130°C sous coussin d'azote, la quantité de peroxydes s'est réduite de moitié après 180; 28 et 20 minutes respectivement.

1. OLINESCU R., 1982 - Peroxidarea în chimie, biologie și medicină. Editură științifică și enciclopedică, București.
2. EGOROVA N.I., 1974 - Trudy VNIRO, T.104 : 89-96 (in russian)
3. RIBALKINA G.N., KUDASKINA Z.N., 1983 - Trudy Atlantiro : 29-34 (in russian).

QUELQUES DONNÉES SUR L'INHIBITEUR NATUREL
DE LA TRYPSINE CHEZ *SQUALUS ACANTHIAS* DE LA MER NOIRE

Natalia ROSOIU

Institut Roumain de Recherches Marines, Constantza (Roumanie)

SUMMARY :

Protein extracts from eggs, organs (liver, pancreas, stomach) and viscera of *Squalus acanthias* (a shark species from the Black Sea) show a trypsin inhibitory activity comparable to natural inhibitors of trypsin isolated and purified from other sources of animal or vegetal origin. Thus, 0,10 mg of gross natural inhibitor obtained from viscera of *S. acanthias* inhibit amounts of pure trypsin ranging between 2 to 6 mg up to 25 %, and amounts between 8 and 16 mg in proportion to 18 % and 7,5 % respectively.

Ce travail présente quelques données sur l'inhibiteur naturel de la trypsine chez *Squalus acanthias*, une espèce de requin de la mer Noire. On a effectué les déterminations de l'activité enzymatique et de l'inhibition de la trypsine, conformément aux méthodes décrites dans les travaux antérieurs, (ROSOIU et coll., 1981 a; 1981 b), en utilisant l'hémoglobine en tant que substrat.

Etant donné qu'on avait décelé chez le requin une importante activité d'inhibition de la trypsine dans les oeufs, le pancréas et l'estomac, mais avec des valeurs du rapport E/I (Enzyme/Inhibiteur) oscillant entre 0,04 et 0,15 (ROSOIU et coll., 1981 a; 1983), les recherches ultérieures ont été effectuées sur extraits protéiques obtenus des viscères, et nous avons constaté les faits suivants :

Au cours des expérimentations où l'on a utilisé des quantités constantes de trypsine (2 mg/ml) et des quantités variables d'inhibiteur, (concentration protéique comprise entre 0,02 et 3,80 mg/ml), le taux d'inhibition de la trypsine a augmenté parallèlement à l'augmentation du rapport E/I, c'est-à-dire de 3,8% à un rapport E/I de 0,53, à 52,2% correspondant au rapport E/I de 100. Cela veut dire que plus la quantité d'inhibiteur est petite, plus le préparé enzymatique pur est inhibé. A des concentrations plus élevées de l'inhibiteur, l'affinité de l'enzyme pour l'effecteur diminue, ceci étant dû aux liaisons intermoléculaires qui s'établissent entre les chaînes peptidiques de l'effecteur, qui devient ainsi partiellement inapte à une interaction avec l'enzyme.

En ce qui concerne les expérimentations où l'on a maintenu la quantité d'inhibiteur constante (concentration protéique = 0,10 mg/ml), tandis que la trypsine était variable (2 à 16 mg/ml), on a enregistré une diminution du taux d'inhibition de la trypsine en fonction de l'augmentation du rapport E/I. De cette manière, l'activité antitrypsique baisse de 25% à 7,5%, ce qui correspond à une croissance du rapport E/I de 20 à 160. Dans ce cas, la décroissance de l'activité antitrypsique s'explique par la présence, dans le milieu de réaction, d'un excès d'enzyme à côté de très petites quantités d'inhibiteur.

De même, nos données prouvent que les extraits protéiques obtenus des viscères de requin de la mer Noire manifestent une activité d'inhibition de la trypsine comparable à celle des inhibiteurs naturels de la trypsine, isolés et purifiés à partir d'autres sources d'origine animale ou végétale. Par exemple, 0,10 mg d'inhibiteur naturel brut, obtenu des viscères de *Squalus acanthias*, inhibe, en proportion de 25 %, des quantités de 2 à 6 mg de trypsine pure. Des quantités de 8 à 16 mg de trypsine pure sont inhibées en proportion de 18 % et 7,5 % respectivement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- ROSOIU N., SERBAN M., PANAIT M., 1981 a - Cercetări marine (Recherches marines), 14 : 223-227.
ROSOIU N., SERBAN M., PANAIT M., 1981 b - Cercetări marine (Recherches marines), 14 : 217 - 222.
ROSOIU N., SERBAN M., 1983 - Rapp.Comm.Int.mer Médit., 28, 8 : 73-74