

**Chimica biologica.** — *Attività amilasica del tessuto adiposo* <sup>(1)</sup>. Nota di F. CEDRANGOLO, presentata <sup>(2)</sup> dal Socio G. QUAGLIARIELLO.

Oltre il più antico e noto lavoro di Euler <sup>(3)</sup> sulla catalasi del tessuto sottocutaneo adiposo, i lavori esistenti in letteratura sugli enzimi di tale tessuto sono, a quanto mi consta, quelli di Quagliariello e Scoz <sup>(4)</sup> sulla lipasi e di Quagliariello <sup>(5)</sup> sulla deidrogenasi di acidi grassi superiori e quello di Scoz <sup>(6)</sup> sugli enzimi glicolitici. Recentemente <sup>(7)</sup> io mettevo in evidenza in tale tessuto una glicerofosfatasi di notevole attività, del tipo delle fosfo-monoesterasi di tipo alcalino attivabile dai  $Mg^{++}$ : successivamente <sup>(8)</sup> Saviano confermando le mie ricerche, notava una cospicua scissione dell'estere esodifosforico da parte di tale enzima. Le ricerche che riferisco in questa Nota, riguardano la presenza di una amilasi nel tessuto adiposo sottocutaneo di cane.

Il tessuto, prelevato da animali a normale alimentazione, uccisi per dissanguamento, è stato tagliato finemente e lavato più volte con acqua: si è aggiunto poi acetone nella quantità di cc. 500 per 100 gr. di tessuto e si è lasciato in riposo per 3 ore: si è decantato e si è aggiunto nuovamente acetone 2 volte, poi una miscela a parti eguali di acetone ed etere ed, infine, solamente etere 2 volte. Il tessuto si è lasciato una notte a temperatura ambiente e poi si è finemente polverizzato: in media da 100 gr. di tessuto adiposo fresco ho ottenuto gr. 4-5 di polvere. La polvere è stata estratta con glicerina 87%, aggiunta nella quantità di cc. 16 per gr. di polvere, prima per 48 ore a 37°, e poi per 8-10 ore in agitatore. Si è filtrato, con aspirazione, attraverso garza e si è ottenuto così un succo, di colorito lievemente giallastro, che è stato conservato in ghiacciaia. Al momento dell'uso, il succo è stato diluito con  $H_2O$  distillata nella proporzione di 1 a 5.

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Chimica biologica della R. Università di Napoli.

(2) Nella seduta del 7 febbraio 1937.

(3) H. v. EULER, «Hofm. Beitr.», 7 (1906), 1.

(4) G. QUAGLIARIELLO e G. SCOZ, «Arch. Sc. Biol.», 17 (1932), 513.

(5) G. QUAGLIARIELLO «Rend. R. Acc. Naz. Lincei», 16 (1932), 552.

(6) G. SCOZ, «Arch. Sc. Biol.», 18 (1933), 385.

(7) F. CEDRANGOLO «Arch. Sc. Biol.», 22 (1936), 123.

(8) M. SAVIANO, «Enzymologica», 1 (1936).

Le esperienze, sono state condotte nel modo seguente: in palloncini da cc. 50 si immettevano cc. 5 di estratto, cc. 10 di puffer di fosfati mol/15 a pH 6.8, cc. 1 di NaCl 0.2 mol, cc. 25 di una soluzione al momento preparata di amido 1 % e H<sub>2</sub>O sino al segno. Contemporaneamente si allestivano 2 prove di controllo, rispettivamente con solo amido e con solo estratto. Si lasciava poi decorrere la reazione in termostato a 37° per un'ora.

Le esperienze si riferiscono a n. 8 estratti, ottenuti dal tessuto adiposo sottocutaneo di 8 cani.

Nelle esperienze con gli estratti I-V ho determinato col metodo iodometrico di Willstätter e Schudel<sup>(1)</sup> i gruppi aldeidici formati. Riferisco i cc. di soluzione n/10 di iodio consumati nelle prove, dopo sottrazione della somma dei cc. di iodio, consumati rispettivamente dall'estratto e dal substrato:

| estratti N. | I   | II  | III | IV   | V   |
|-------------|-----|-----|-----|------|-----|
| cc. J n/10  | 1.1 | 0.4 | 0.7 | 0.95 | 1.2 |

I cc. di iodio consumati corrispondono a valori di maltoso compresi tra 6.84 e 20.5 mg., cioè a una scissione dell'amido del 3.7 %-11 %.

Nelle esperienze con gli estratti VI-VIII, ho determinato secondo la nota tecnica di Berstrand, l'azione riduttrice sul Cu<sup>++</sup> dello zucchero formato. I mg. di rame ridotti nelle singole esperienze furono:

|                                     |       |       |       |
|-------------------------------------|-------|-------|-------|
| estratto n. . . . .                 | VI    | VII   | VIII  |
| dall'estratto enzimatico . . . . .  | —     | —     | —     |
| dal substrato . . . . .             | 6.88  | 6.91  | 6.70  |
| dall'estratto + substrato . . . . . | 22.05 | 18.31 | 22.32 |

Se dai valori di riduzione, dati dall'estratto + substrato si sottraggono quelli dati dal solo substrato, si ottengono valori di Cu in mg., corrispondenti a mg. 10-14 di maltoso. Questi risultati, quindi, sono concordi coi precedenti.

Servendomi dell'estratto V, che in queste esperienze si è mostrato il più attivo, ho voluto calcolare la costante di velocità della scissione dell'amido. A questo intento ho determinato di 10 in 10 minuti, col metodo iodometrico e con le modalità sopra descritte, la quantità di maltoso formato.

Come risulta dalla tabella che segue si tratta di una reazione monomolecolare perchè ad essa si applica la formula  $k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$  dove  $t$  è il tempo in minuti;  $a$  la quantità massima di maltoso che si può formare

(1) R. WILLSTÄTTER e G. SCHUDEL, « Ber. Chem. Ges. », 51 (1918), 780.

dall'amido: questa quantità si pone eguale al 75 % dell'amido impiegato, quindi nel caso presente  $a = 0.1875$ ;  $x$  è la quantità di maltoso in mg. formata al tempo  $t$ .

| $t$   | $x$  | $k$     |
|-------|------|---------|
| 10    | 3.6  | 0.00084 |
| 20    | 7.5  | 0.00088 |
| 40    | 14   | 0.00085 |
| 50    | 17   | 0.00083 |
| 60    | 20.5 | 0.00084 |
| media |      | 0.00085 |

Assumendo, con le idee di Willstätter e collaboratori<sup>(1)</sup>, il valore di  $k$  come il numero delle unità amilasiche nella quantità impiegata di preparato secco (mg. 62.5) si ricava il valore amilasico (Am.-Wert. degli AA. cit.), cioè il numero di unità amilasiche in gr. 0.01 di preparato:

$$\text{val. am.} = \frac{0.00085 \times 0.01}{0.0625} = 0.000136.$$

Questo valore se si paragona a quello di un preparato di amilasi pancreatici (val. am. = 0.476) dato da Willstätter e coll. (l. c., 1), risulta piccolissimo, cioè esattamente 3500 volte più piccolo; ma risulta più o meno eguale a quello di un preparato amilasico di fegato (val. am. = 0.00009 — 0.0003) ottenuto colla tecnica di Holmbergh<sup>(2)</sup>.

(1) R. WILLSTÄTTER, E. WALDSCHMIDT-LEITZ ed A. R. F. HESSE, «Zeit. f. Physiol. Chem.», 126 (1923), 143.

(2) O. HOLMBERGH, «Zeit. f. Physiol. Chem.», 134 (1924) 68.

92 5 18 4 4 8