



*H. Chau. Prof. A. Nager  
19/6/23 amozzi. sent.  
Bausurabing*

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXXII, ser. 5ª, 2º sem., fasc. 3ª-4ª — Roma, agosto 1923.

Comunicazioni pervenute all'Accademia durante le ferie del 1923.

# STUDII SULL'INSULINA

## I. AZIONE DELL'INSULINA SUI FERMENTI

NOTA

DEL PROF.

UBALDO SAMMARTINO



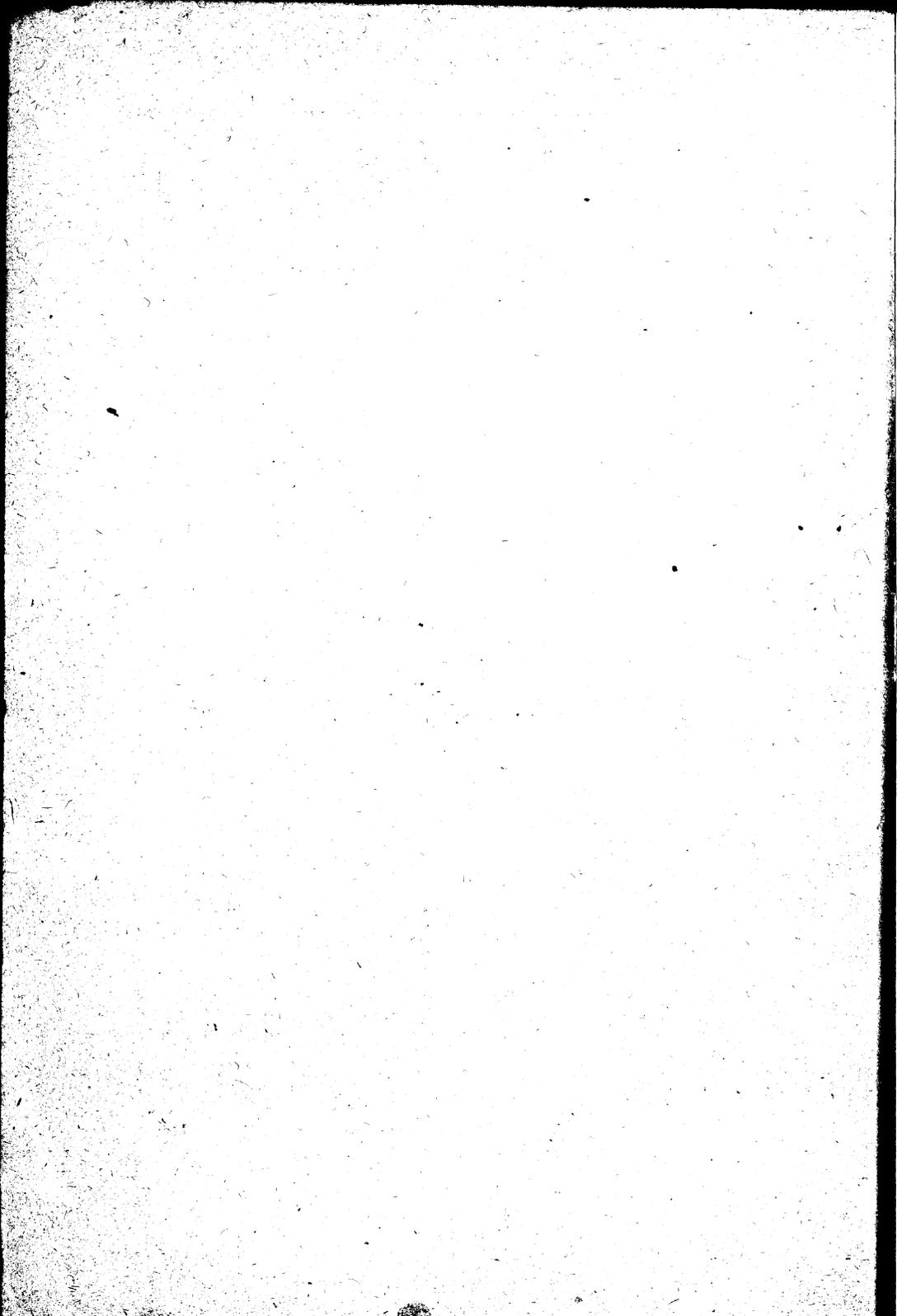
*700012.  
S  
65  
56*

ROMA

TI. DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1923





**Chimica fisiologica.** — *Studi sull'insulina: I. Azione dell'insulina sui fermenti* <sup>(1)</sup>. Nota del prof. UBALDO SAMMARTINO, presentata dal Corrisp. D. LO MONACO <sup>(2)</sup>.

In una precedente comunicazione abbiamo accennato ad alcune esperienze preliminari condotte da noi e dal prof. Liotta con un estratto pancreatico (insulina), da noi preparato, seguendo la tecnica indicata da Banting e Best. L'insulina, che si ottiene con questo procedimento, è un miscuglio di sostanza attiva e di sostanze aderenti, difficili a separarsi.

Un tentativo di isolare l'insulina a mezzo dell'acido picrico, trasformando il relativo picrato in cloridrato non sembra che abbia permesso agli Autori americani di risolvere il quesito.

La preparazione d'insulina da noi ottenuta corrisponde al tipo definito da Collip semipuro.

<sup>(1)</sup> Lavoro eseguito nell'Istituto di Chimica fisiologica della R. Università di Roma.

<sup>(2)</sup> Perveuta all'Accademia il 30 luglio 1923.

Gli autori canadesi considerano necessaria la divisione della sostanza attiva endocrina dai fermenti pancreatici esterni e specialmente dalla proteasi.

Ora Lombroso, in un recente lavoro, ha dimostrato che il liquido di Ringer glicosato, circolando nel pancreas isolato di cane, rivela la presenza di un'attiva amilasi e di un enzima proteolitico anch'esso attivo.

Sulla base di tali osservazioni abbiamo intraprese brevi ricerche con il duplice scopo di riconoscere, se gli estratti pancreatici da noi ottenuti presentano attività diastatica, ed eventualmente se l'insulina è capace di esercitare un'influenza qualsiasi sulla velocità di reazione di alcuni fermenti, analogamente ad altre sostanze di natura chimica ignota come le vitamine. Le osservazioni da noi fatte si riferiscono alla diastasi, alla catalasi e alla lipasi.

In un primo tempo abbiamo saggiata l'attività modificatrice del nostro estratto sulla velocità di reazione della maltasi, della catalasi del sangue, della lipasi; in un secondo tempo abbiamo ricercato se i diversi estratti possedessero ciascuno queste varie attività diastatiche.

Le esperienze vennero condotte con due tipi di estratti, entrambi efficaci per la loro attività insulinica, ma di diverso grado di purezza, a seconda che contenevano più o meno proteine.

Riportiamo per brevità alcune delle esperienze più salienti.

*Ricerche sulla diastasi.* — Venne adoperata salda d'amido Arrowroot al 2% alla quale si aggiungeva 10 cc. di soluzione di maltasi Kahlbaum a 1% e insulina. Nel controllo si sostituiva all'insulina acqua distillata, per portare il miscuglio alla stessa diluizione.

La determinazione del maltosio venne effettuata col metodo riduttore (metodo di Bertrand) ogni mezz'ora.

TABELLA I.  
*Ricerche sulla diastasi. Temperatura 28°.*

Tempo di reazione	Quantità di maltosio in 20 cc. di soluzione d'amido		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
½ ora	mg 13	17	130	L'insulina è ricca di proteine.
1 "	15,7	18,5	117	
1 ½ "	17,7	22,4	126	
2 ore	20,2	25,8	128	

Soluzione senza insulina: 150 cc. di soluzione d'amido al 2% + 10 cc. di maltasi all'1% + 5 cc. di H<sup>2</sup>O.

Soluzione con insulina: 150 cc. di soluzione d'amido al 2% + 10 cc. di maltasi all'1% + 5 cc. di insulina attiva.

Per risolvere il quesito se la maggiore produzione di maltosio fosse dovuta ad azione catalizzatrice dell'insulina sulla maltasi o a presenza di diastasi sull'estratto pancreatico istituimmo altre esperienze.

TABELLA II.

*Ricerche sulle diastasi. Temperatura di reazione 25°.*

Tempo di reazione	Quantità di maltosio in cc. 20 di soluzione d'amido con insulina tipo I, II, III			Osservazioni
	I mg.	II mg.	III mg.	
½ ora	Tracce	Tracce	Tracce	L'insulina adoperata è di 3 diverse preparazioni.
1 »	»	»	11	
1 ½ »	29	26	18	
2 ore	34,5	32	27	

Soluzioni con diversi estratti di insulina I-II-III: 150 cc. di salda d'amido al 2% + 20 cc. di insulina.

Identici esperimenti vennero eseguiti, adoperando estratti di insulina il più possibile esenti da proteine e attivi alla dose biologica di 1 cc.

In tutti indistintamente non fu possibile rilevare nè presenza di diastasi pancreatica, nè azione sulla velocità di reazione della maltasi.

*Esperienze sulla catalasi.* — Ci servimmo del metodo gassometrico, misurando la quantità di O<sup>2</sup> molecolare sviluppato in una data unità di tempo da una soluzione diluita all'1,5% di H<sup>2</sup>O<sup>2</sup> in presenza di eguali quantità di sangue prelevato dallo stesso animale per ogni esperienza.

TABELLA III.

*Ricerche sulla catalasi. Temperatura 26°.*

Tempo di reazione	O <sup>2</sup> molecolare sviluppato dalle soluzioni di catalasi (ridotto a 0° e 760 Hg mm.)		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
2 minuti	cc. 10	19	190	L'insulina è ricca di proteine.
4 »	18	29	161	
6 »	25	38	152	
8 »	30	43	143	
10 »	32	45	140	
12 »	34,2	49	143	
14 »	35,2	52	147	
16 »	36,0	56	155	
17 »	37,0	57	154	

Soluzione senza insulina: 30 cc. di H<sup>2</sup>O<sup>2</sup>-diluita a 50 cc. + 0,02 di sangue in soluzione + 5 cc. H<sup>2</sup>O.

Soluzione con insulina: 30 cc. di H<sup>2</sup>O<sup>2</sup> diluita a 50 cc. + 0,02 di soluzione di sangue + 5 cc. di insulina.

TABELLA IV.  
*Ricerche sulla catalasi. Temperatura di reazione 25°.*

Tempo di reazione	Ossigeno molecolare sviluppato dalle soluzioni di catalasi		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
2 minuti	cc. 45	45	—	Insulina ricca di sostanze proteiche.
4	72	80	125	
6 »	91	118	125	
8 »	109	136	134	
10 »	120	153	127	
12 »	126,4	165	131	
14 »	129,6	171	131	
16 »	134	179	133	

Soluzione senza insulina: 30 cc. di H<sup>2</sup>O<sup>2</sup> 1,5 % diluita a 50 cc. + 0,12 di sangue + 10 cc. di H<sup>2</sup>O.

Soluzione con insulina: 30 cc. di H<sup>2</sup>O<sup>2</sup> 1,5 % diluita a 50 cc. + 0,12 di sangue + 10 cc. di insulina.

TABELLA V.  
*Ricerche sulla catalasi. Temperatura 25°.*

Tempo di reazione	O <sup>2</sup> sviluppato dalla soluzione di catalasi		O <sup>2</sup> molecolare sviluppato dalla soluzione di catalasi		Fattore %		Osservazioni
	senza insulina	con insulina I	senza insulina	con insulina II	I	II	
2 minuti	cc. 5,6	7,5	cc. 6,1	6,0	133	—	Estratti di insulina più puri.
4 »	15	16,4	15,5	15,2	109	—	
6 »	18,0	20,0	19	18,8	111	101	
8 »	21,0	21,0	22	21,9	—	—	
10 »	23,0	23,4	24,3	24,5	—	—	
12 »	24,2	25,1	26,0	25,9	103	—	
14 »	25	25,8	27	26,8	103	—	

Soluzioni senza insulina: 25 cc. di H<sup>2</sup>O<sup>2</sup> 1,5 % diluita a 50 cc. + 0,04 di sangue + 5 cc. di H<sup>2</sup>O.

Soluzioni con insulina: 25 cc. di  $H^2O^2$  1,5 % diluita a 50 cc. + 0,04 di sangue + 5 cc. di insulina.

L'aumento qualche volta notevole, che riscontriamo nei valori di catalasi per opera di estratti non molto puri di insulina, trova riscontro in certo modo nei risultati di Henry Iscovesco, il quale ebbe ad osservare talora un contenuto non dubbio di catalasi negli estratti di pancreas.

Risultati negativi abbiamo ottenuto ricercando la lipasi o facendo agire l'insulina sulla lipasi pancreatica: nell'uno e nell'altro caso non abbiamo accertato nè presenza del fermento, nè azione catalizzatrice.

In base alle nostre osservazioni dobbiamo ammettere che la presenza di scarse quantità di diastasi e di catalasi negli estratti di insulina sono da considerarsi impurezze del metodo di estrazione della sostanza attiva endocrina, e che l'insulina sui fermenti da noi sperimentati non esercita alcuna influenza. Ci proponiamo di studiare gli effetti dell'insulina sulla zimasi.

---

57844



