

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXXI
1924

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXIII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1924

Chimica fisiologica. — *Studi sull'insulina: II. Azione dell'insulina sulla zimasi* ⁽¹⁾. Nota del prof. UBALDO SAMMARTINO, presentata dal Corrisp. LO MONACO ⁽²⁾.

In base ai risultati di alcune precedenti osservazioni (Rend. Acc. Lincei XXXII, ser. 5^a, agosto 1923), avevamo potuto stabilire che gli estratti d'insulina non contengono lipasi, catalasi e diastasi; e, se mai, quest'ultima come impurezza, e che l'insulina non esercita alcuna influenza sulla reazione di questi fermenti. In quella stessa Nota ci eravamo proposti di ricercare se il principio attivo delle isole del Langerhans, non fosse per caso capace di modificare il processo di trasformazione del glicosio per opera della zimasi.

L'argomento poteva offrire un certo interesse, sia perchè Collip già aveva ottenuto dal lievito di birra un estratto dotato della stessa azione ormonica dell'insulina, sia per portare un contributo alla conoscenza ancora imprecisa dei rapporti intercedenti fra l'insulina e alcuni processi di glicolisi *in vitro*.

Con una prima serie di numerose esperienze, iniziate nel luglio 1923, abbiamo studiato l'azione biologica del *Saccharomyces cerevisiae* in presenza di soluzioni di saccarosio e di glicosio a diversa concentrazione; in un secondo tempo abbiamo escluso l'azione della cellula e abbiamo sperimentato con il fermento preparato secondo il metodo di Lebedeff (Ann. Pasteur, XXVI, 8, 37). La difficoltà di ottenere un lievito adatto, capace cioè di dare zimasi e coenzima, ci ha obbligati a ritardare la pubblicazione di queste ricerche.

Le esperienze vennero condotte con tipi diversi di insulina: insulina Lilly, Iletin, Ilögländol, e due altri tipi preparati da noi stessi, uno semipuro con il metodo di Collip alquanto modificato, e un altro purificato per precipitazione con acido benzoico. L'attività delle diverse insuline venne precedentemente saggiata, sia negli animali sia direttamente nell'uomo.

Come apparecchio di reazione ci siamo serviti di due azotometri di Dumas con chiusura a mercurio: praticando il vuoto, si poteva in qualunque momento aggiungere alla miscela reagente l'insulina. Riportiamo solo alcune delle numerose esperienze, da noi compiute.

Ricerche con il lievito di birra. — Vennero adoperati parecchi tipi di lievito, viennese e lievito delle distillerie italiane. Del lievito fresco si

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

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia il 5 agosto 1924.

preparava una sospensione di vario titolo al 10 % o al 5 %, che si metteva a reagire, in quantità esattamente determinata, con una quantità misurata di soluzione di saccarosio o di glicosio (Kahlbaum).

TABELLA I.

Ricerca sulla fermentazione da «*Saccharomyces cerevisiae*».-Temperat. 32°.

Tempo di reazione	Sviluppo di CO ₂ da 10 ccm. di sospensione di lievito + glicosio		Fattore %	Osservazioni	
	senza insulina	con insulina			
15 minuti	0,9	0,7	— 128	Si agg. 20 U. Ilögländol	
30 »	1,6	1,4	— 114		
45 »	3,0	3,0	100		
1 ora	6,0	5,7	— 105		
1 » 15 minuti	9,0	9,0	100		
1 » 30 »	11,1	11,0	100		
1 » 45 »	13,6	13,2	— 103		
2 »	16,4	16,1	— 101		
2 » 15 »	3,7	3,3	— 112		Si allontana la CO ₂ sviluppata e si riprende l'esperienza
2 » 30 »	6,2	5,8	— 107		
2 » 45 »	8,6	8,2	— 104		

Miscuglio senza insulina: ccm. 10 di sospensione di lievito al 5 % + 10 ccm. di soluzione di glicosio al 5 % + 1 ccm. di acqua distillata.

Miscuglio con insulina: 10 ccm. di sospensione di lievito di birra al 5 % + 10 ccm. di soluzione di glicosio al 5 % + 1 ccm. di Ilögländol.

TABELLA II.

Ricerca sulla fermentazione da «*Saccharomyces cerevisiae*».-Temperat. 34°.

Tempo di reazione	ccm. di CO ₂ sviluppata da 10 ccm. di sospensione di lievito + glicosio		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
15 minuti	0,5	0,5	100	Si agg. 20 U. ins. di nostra, prepar. purificata
30 »	2,1	2,2	+ 104	
45 »	3,6	3,8	+ 105	
1 ora	6,0	6,2	+ 103	
1 » 15 minuti	8,2	8,4	+ 101	
1 » 30 »	10,3	10,9	+ 105	
1 » 45 »	18,5	14,2	+ 105	
2 »				
2 »	5,3	5,3	100	
2 » 15 »	8,2	8,3	+ 101	
2 » 30 »	11,0	10,6	— 103	
2 » 45 »	14,0	13,6	— 102	
3 ore	16,2	16,1	100	

Miscuglio senza insulina: 10 ccm. di glicosio al 5 % + 10 ccm. di sospensione di lievito al 5 % + 1 ccm. di soluzione fisiologica.

Miscuglio con insulina: ccm. 10 di glicosio al 5% + 10 ccm. di sospensione di lievito al 5% + 1 ccm. di insulina nostra, tipo 2°.

TABELLA III.

Ricerca sulla fermentazione da « Saccharomyces ». - Temperatura 28°.

Tempo di reazione	ccm. di CO ₂ sviluppata da 10 ccm. di sospensione di lievito + glicosio		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
15 minuti	0	0	0	
30 »	0,5	0,7	+ 140	
45 »	1,9	1,5	- 126	
1 ora	2,7	2,6	- 103	
1 » 15 minuti	4,5	4,7	+ 104	Si agg. 27 U. Ilögländol
1 » 30 »	6,3	6,0	- 105	
1 » 45 »	8,5	8,0	- 106	
2 ore	9,7	9,0	- 107	Si toglie la CO ₂ sviluppata e si continua l'esperienza
2 » 15 »	4,2	4,1	- 102	
2 » 30 »	5,4	5,6	+ 102	
2 » 45 »	6,5	6,8	+ 104	
3 »	8,5	8,4	- 101	
3 » 15 »	9,8	9,5	- 103	Idem
3 » 30 »	1,9	1,7	- 111	
3 » 45 »	3,2	3,0	- 109	
4 »	4,5	4,2	- 107	
4 » 15 »	15,6	15,2	- 102	
Totale . . .	25,1	23,7	- 105	Reazione terminale

Miscuglio senza insulina: 10 ccm. di soluz. di glicosio al 5% + 10 ccm. di sospensione di lievito al 4% + 1,3 ccm. di acqua distillata.

Miscuglio di insulina: 10 ccm. di soluzione di glicosio al 5% + 10 ccm. di sospensione di lievito al 4% + 1,3 ccm. di Ilögländol.

TABELLA IV.

Tempo di reazione	CO ₂ sviluppata in ccm.		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
15 minuti	0,7	0,7	100	
30 »	1,3	1,3	100	
45 »	2,2	2,2	100	
1 ora	4,2	4,1	- 102	Si agg. ccm. 2 d'insulina
1 » 15 minuti	5,9	5,9	100	
1 » 30 »	8,1	8,6	+ 106	
1 » 45 »	9,3	11,3	+ 121	
2 ore	10,7	15,0	+ 140	
2 » 15 »	12,0	17,4	+ 145	
2 » 30 »	16,2	22,6	+ 139	
2 » 45 »	18,5	24,7	+ 133	
11 »	38,9	40,1	-	Reazione terminale

Miscuglio senza insulina: 8 ccm. di soluzione di glicosio al 5% + 8 ccm. di sospensione di lievito al 5% + 2 ccm. di soluzione fisiologica.

Miscuglio con insulina: 8 ccm. di soluzione di glicosio al 5% + 8 ccm. di sospensione di lievito al 5% + 2 ccm. di insulina di nostra preparazione, tipo semipuro (U. 40).

TABELLA V.

Tempo di reazione	CO ₂ in ccm. sviluppata		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
30 minuti	0,8	0,8	100	Si agg. ccm. 2,5 di Ilögländol
1 ora	1,1	1,1	100	
1 » 30 minuti	2,0	2,0	100	
2 ore	3,0	3,0	100	
2 » 30 »	4,1	4,6	+ 112	
3 »	6,3	7,6	+ 120	
3 » 30 «	8,1	8,8	+ 108	
4 »	10,5	10,7	+ 101	
12 »	17,9	16,4	- 103	

Miscuglio senza insulina: ccm. 10 di soluzione di glicosio al 10% + + 10 ccm. di sospensione di lievito al 5% + ccm. 2,5 di soluzione fisiologica.

Miscuglio con insulina: ccm. 10 di soluzione di glicosio al 10% + + 10 ccm. di sospensione di lievito al 5% + ccm. 2,5 di Ilögländol (42 U.)

Ricerche con la zimasi. — La zimasi, estratta con il metodo su accennato da un tipo di lievito di birra di Vienna e sottoposta a ripetute filtrazioni e centrifugazioni, risultò esente perfettamente da cellule.

TABELLA VI.

Ricerca con la zimasi. — Temperatura d'ambiente.

Tempo di reazione	CO ₂ sviluppata da 10 ccm. di zimasi + glicosio		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
3 ore	tracce	tracce	0	1 ccm. di Ilögländol
6 »	0,90	0,95	+ 105	
9 »	1,5	1,6	+ 106	
12 »	2,3	2,5	+ 109	

Miscuglio senza insulina: 10 ccm. di soluzione di glicosio al 5% + + 10 ccm. di soluzione di zimasi + 1 ccm. di H₂O.

Miscuglio con insulina: 10 ccm. di soluzione di glicosio al 5% + + 10 ccm. di soluzione di zimasi + 1 ccm. di Ilögländol (20 U.).

TABELLA VII.

Ricerca con la zimasi. - Temperatura di stanza.

Tempo di reazione	CO ₂ sviluppata da 10 ccm. di soluzione di zimasi + glicosio		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
2 ore	tracce	tracce	0	2 ccm. insulina Lilly
4 »	0,50	0,50	100	
6 »	1,10	1,15	+ 104	
8 »	1,6	1,7	+ 105	
10 »	2,1	2,2	+ 104	

Miscuglio senza insulina: 10 ccm. di soluzione di glicosio al 5% + 8 ccm. di soluzione di zimasi + 2 ccm. di H₂O.

Miscuglio con insulina: 10 ccm. di soluzione di glicosio al 5% + 8 ccm. di soluzione di zimasi + 2 ccm. di insulina Lilly (40 U.).

TABELLA VIII.

Ricerca con la zimasi. - Temperatura di stanza.

Tempo di reazione	CO ₂ sviluppata dalla soluzione di zimasi + glicosio		Fattore %	Osservazioni
	senza insulina	con insulina		
2 ore	0,35	0,30	- 116	2 ccm. insulina di nostra preparazione
4 »	0,60	0,45	+ 108	
6 »	1,20	1,30	+ 108	
8 »	2,15	2,30	+ 106	
10 »	2,50	2,60	+ 104	

Miscuglio senza insulina: 10 ccm. di soluzione di zimasi + 10 ccm. di soluzione di glicosio al 5% + 2 ccm. di H₂O.

Miscuglio con insulina: 10 ccm. di soluzione di zimasi + 10 ccm. di soluzione di glicosio al 5% + 2 ccm. di insulina di nostra preparazione, purificata (40 U.).

Analogamente ai risultati recentemente pubblicati dal Ducceschi ⁽¹⁾, dal complesso delle nostre esperienze risulta che l'insulina, quale che sia il metodo di preparazione, non modifica in modo evidente il decorso della glicolisi per opera del *Saccharomyces cerevisiae* o per azione della zimasi. Se eccezionalmente qualche volta abbiamo riscontrato un aumento notevole della glicolisi (ved. tab. IV) *in vitro*, dobbiamo ammettere che ciò sia dovuto verosimilmente all'impiego di un'insulina di nostra preparazione, semipura (Rend. Acc. Lincei, XXXII, ser. 5^a, I fasc., giugno 1923), in cui il controllo chimico ci

(¹) Boll. Soc. med. chir. Pavia. XXXVI, fasc 3^o, an. 1924.

rivelò la presenza di una quantità rilevante di fosfati, i quali, come è noto, esercitano, sui processi da noi adoperati, una forte azione stimolante.

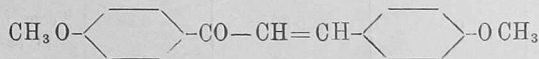
In genere sia con insuline esenti da sostanze antisettiche, sia con insuline del commercio contenenti tricresolo, si ottengono modificazioni così minime nel senso di un ritardo o un accelerazione della velocità di reazione, o nel valore terminale della reazione, da farci razionalmente concludere che il principio attivo del pancreas non eserciti influenza apprezzabile, nè sulla fermentazione degli zuccheri per opera del *Saccharomyces*, nè sulla glicolisi da zimasi.

Chimica. — *Ancora sui calconi e idrocalconi* ⁽¹⁾. Nota di V. TOGNAZZI, presentata dal Corrisp. N. PARRAVANO ⁽²⁾

Descrivo in questa Nota la preparazione di alcuni calconi e le esperienze che ho fatte per idrogenarli in presenza di nero di platino, allo scopo di vedere, come esposti in una mia Nota precedente ⁽³⁾, se viene idrogenato soltanto il doppio legame oppure anche il CO chetonico.

PARTE SPERIMENTALE.

1) 4-4'-dimetossi-calcone



Otteni questo calcone condensando l'aldeide anisica (gr. 5) col parametossi-acetofenone (gr. 5) che era stato preparato per azione del cloruro di acetile sull'anisolo, disciolti nel solvente di carbonio, in presenza di cloruro di alluminio ⁽⁴⁾.

Aggiungendo una soluzione di gr. 5 di idrato sodico in 5 c. c. di acqua alla soluzione alcoolica delle due sostanze, il liquido acquista subito colore giallo e, dopo poco, cominciano a separarsi gocce oleose. Agitando la miscela, il prodotto di condensazione si solidifica e si deposita in granuli gialli chiari. Si filtra, si lava con acido cloridrico diluito e si fa cristallizzare dall'alcool metilico bollente. Per raffreddamento si deposita il calcone ben cristallizzato in aghetti gialli fusibili a 100-102°.

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di Chimica farmaceutica della R. Università di Siena.

⁽²⁾ Presentata nella seduta del 30 maggio 1924.

⁽³⁾ Questi Rendiconti, vol. XXXIII, 2° sem. (1924), pag. 51.

⁽⁴⁾ Ber., 23, 1201 (1890).