Rendiconti
Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL
Memorie di Scienze Fisiche e Naturali
132° (2015), Vol. XXXVIII, Parte II, pp. 253-266

ROBERTO PELLICCIARI *

L'Istituto Superiore di Sanità ai tempi della Fusicoccina. Un tributo ad Alessandro Ballio

Ringrazio l'Accademia delle Scienze ed il Presidente, Professoressa Chiancone, per avermi invitato a questa giornata dedicata al ricordo di Sandro Ballio con cui ho collaborato alle ricerche sulla Fusicoccina per quasi tre anni, dal 1965 al 1968. Tornare a quei tempi e cercare di catturare le tappe principali della storia di questo grande successo scientifico italiano vuole essere, in questa circostanza, il riconoscimento dell'importanza che gli «anni della Fusicoccina» hanno avuto nella mia formazione scientifica ed un tributo riconoscente a Sandro Ballio.

Gli inizi della collaborazione

Ho conosciuto Sandro Ballio agli inizi del 1965, alla Sanità, nel periodo in cui, vinta la Cattedra di Sostanze Naturali, egli si stava trasferendo all'Università Federico II di Napoli ed io stavo terminando la mia tesi di Laurea nei Laboratori di Chimica Biologica della Sanità sotto la guida di Marini Bettolo e di Carlo Giulio Casinovi. Una volta laureato e vinta una borsa di studio, ripresi le mie ricerche sulla Strychnos Panamensis, le terminai [1], ed iniziai a studiare una nuova Strychnos, la Tabascana. Ma questo nuovo studio durò poco. Una mattina, durante il suo frettoloso ma metodico passaggio nei laboratori, Marini Bettolo mi disse che la Tabascana poteva aspettare e che da allora in poi avrei collaborato ad un nuovo, importante progetto sotto la supervisione di Ballio. Non molto di più, e fu così che entrai nel mondo della Fusicoccina.

* Università degli Studi di Perugia, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche.
E-mail: roberto.pellicciari@unipg.it — TES PHARMA Srl. Loc. Taverne, Corciano (PG).
E-mail: rpellicciari@tespharma.com

La Fusicoccina. Breve storia della scoperta

Antonio Graniti era stato il primo a riportare, nel 1962, che la malattia wilt degli alberi di mandorlo (Prunus dulcis) e di pesche (Prunus Persica) era causata da una piccola molecola, la Fusicoccina, prodotta da un fungo infettante, il Fusicoccum (Phomopsis) Amigdaly (Fig. 1) [2]. Era stato lo stesso Graniti a contattare Ballio, allora giovane ricercatore del Centro Internazionale di Microbiologia Chimica dell'ISS allora diretto da Ernst Boris Chain, e così il progetto della Fusicoccina era entrato a far parte delle ricerche che Ballio già svolgeva su nucleotidi di microorganismi e su metaboliti di agenti fitotossici [3].

Graniti A. Phytopat. Mediter. 1962, 1, 182

ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE DELL'UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
BARI - ITALIA

Qualche dato di fitotossicità della «fusicoccina A», una tossina prodotta *in vitro* da *Fusicoccum amygdali* Del. (*)

di ANTONIO GRANITI

C.D.U. 576.8.097.29 : 582.288.22 Fusicoccum amygdali

Fig. 1. Il primo dato sulla Fusicoccina.

Nella prima fase del nuovo progetto erano stati messi a punto nuovi metodi per la produzione, l'isolamento e la purificazione della Fusicoccina e determinate alcune sue caratteristiche chimiche preliminari quali la formula generale, $C_{38}H_{58}O_{13}$, la natura glucosidica, la presenza di un gruppo metossilico, di due gruppi acetilici, di un doppio legame; nel luglio 1964 i risultati vennero pubblicati su Nature [4]. Con il trasferimento di Ballio all'Università di Napoli si chiudeva la prima fase del progetto e se ne apriva una nuova, più complessa, in cui la «preda grossa» era rappresentata dalla determinazione della struttura e della stereochimica della Fusicoccina e, per raggiungere questo scopo, al Centro di Microbiologia si sarebbe ora aggiunta l'unità dei Laboratori di Chimica Biologica. Quella della Fusicoccina, come appresi subito, era non solo un'impresa scientifica di grande complessità, ma anche una gara in cui sembravamo partire svantaggiati. Dovevamo competere, infatti, con il gruppo di ricerca del Department of Chemistry and Biochemistry dell'Imperial College di Londra guidato da Ernst Boris Chain che, dopo aver lasciato l'Italia nel 1965 (non nel migliore dei modi) si era trasferito armi, bagagli – e Fusicoccina – all'Imperiale College, e da Derek H. Barton (Premio Nobel 1969).

Alla conquista della struttura della Fusicoccina: La strategia di Ballio

Per svelare i segreti strutturali della Fusicoccina, Ballio aveva organizzato un gruppo interdisciplinare formato da ricercatori provenienti sia dall'ISS che dalle Università di Napoli e Roma. Un gruppo affiatato, pronto ad affrontare la difficile sfida sulla base di paradigmi scientifici allora all'avanguardia, diversi da quelli che avevano guidato fino ad allora gli studi di determinazione strutturale di nuove molecole di origine naturale. Sino all'inizio degli anni '60, infatti, la struttura di una nuova molecola avveniva elaborando, mediante metodi deduttivi e di logica del pensiero, i dati strutturali ottenuti manipolando chimicamente la molecola stessa. E la sfida era trovare gli approcci sintetici adatti per scindere la molecola in frammenti conosciuti e cercare poi di rimetterli insieme di nuovo. Era un processo lento e distruttivo che comportava, nella fase finale, la resintesi del composto. La precedente generazione di ricercatori era, sopratutto in Italia, di natura conservatrice e accettava con fatica l'introduzione di nuovi metodi chimico fisici quali la spettrometria di massa e la risonanza magnetica nucleare che, proprio in quegli anni, affiancavano sempre di più, rivoluzionandola, la chimica organica tradizionale. Ballio, al contrario, conosceva profondamente queste tecnologie, ed era pronto ad applicarle al progetto della Fusicoccina.

Era, quella di Ballio, una nuova generazione di ricercatori italiani di livello internazionale, che si era formata nell'ISS negli anni in cui Domenico Marotta era riuscito a farne un centro di ricerca di livello mondiale con una serie d'iniziative non convenzionali per l'epoca. Tra queste l'invito a Roma di due premi Nobel, Ernst Boris Chain e Daniele Bovet per dirigere, rispettivamente, il «Centro Internazionale di Chimica Microbiologica», CICM, (inaugurato il 12 febbraio 1948 in presenza di Marotta, De Gasperi, Chain e dell'ambasciatore americano Dunn) (Fig. 2) e il «Laboratorio di Chimica Terapeutica». In questi laboratori si era formata una generazione

Fig. 2. Inaugurazione del Centro internazionale di Microbiologia Chimica (1948). Da sinistra: Marotta, Dunn, Chain, De Gasperi.

di brillanti scienziati quali Marini Bettolo, Arcamone e, tra i più giovani, Ballio e Casinovi (Fig. 3). Sandro Ballio, in particolare, aveva contribuito al successo scientifico forse più importante del CIMC, la scoperta e l'isolamento dell'acido 6-amino-penicillanico (6-APA), un intermedio chiave per la preparazione della meticillina e delle penicilline semisintetiche [5]. Questa scoperta, che può essere considerata come il punto d'inizio della ricerca biotecnologica italiana, avveniva in un 1959 ancora pieno di promesse per il futuro della scienza italiana, mentre erano già in agguato, su più fronti, manovre politiche di «chiusura» che avrebbero allontanato dalla scena scientifica protagonisti di grande capacità quali Marotta e Ippolito e ricondotto la ricerca italiana a ruoli subalterni e periferici, più consoni alla ristrettezza accademica che da allora in poi avrebbe dominato, pur con eccezioni a macchia di leopardo, la scena scientifica italiana. Era un altro degli aspetti del «miracolo italiano» che lentamente svaniva…

Ma torniamo alla Fusicoccina ed alla strategia messa a punto da Ballio per lo studio della sua struttura. Questa strategia poteva così essere riassunta:

Fig. 3. Carlo Giulio Casinovi.

1. *Miglioramento del processo di produzione e isolamento della Fusicoccina*

Le operazioni relative alla produzione e all'isolamento della Fusicoccina, di importanza fondamentale per lo sviluppo del progetto, venivano svolte nel CIMC sotto la supervisione di Ballio anche dopo la sua partenza per Napoli. Va messo in evidenza come un miglioramento significativo nei metodi di produzione ed isolamento di Fusicoccina permetteva di avere a disposizione la Fusicoccina nelle grandi quantità necessarie per i nostri studi. Un notevole passo avanti, a questo riguardo, era stato fatto con la scoperta che per trattamento del ceppo originario con luce U.V. era possibile ottenere ceppi di Fusicoccum «alto produttori» in grado di produrre la Fusiccoccina (100-150 mg/litro) in quantità fino a 10 volte maggiori rispetto al ceppo originario [6].

2. *Applicazione estensiva dell'NMR e della spettrometria di massa*

Il progetto poteva contare su una strumentazione all'avanguardia che veniva gestita da Ballio per la spettrometria di massa (ISS, Universita di Napoli) e da Casinovi (Laboratori di Chimica Biologica, ISS) per la risonanza magnetica nucleare (era appena arrivato all'ISS, primo in Italia, il 100 Mhz.).

3. *Analisi tridimensionale ai Raggi X di un derivato della Fusicoccina con atomo pesante*

La Cristallografia ai raggi X poteva contare sul gruppo dell'Università di Roma (Brufani, Cerrini, Fedeli, Vaciago), a quel tempo uno dei più avanzati in Italia.

4. *Uso ristretto delle operazioni di chimica organica tradizionale*

Il gruppo di chimica organica «tradizionale» era davvero minimo, costituito come era da me e da Beniamino Santurbano, un tecnico di grande esperienza che aveva già collaborato con Ballio nel Centro di Microbiologia Chimica. Il nostro compito, a riassumerlo, consisteva nel sottoporre la Fusicoccina a reazioni di degradazione chimica mirata. Dopo essere stato isolato e sottoposto ad una prima caratterizzazione (le analisi UV e I, R, ad esempio, erano a carico nostro) il nuovo prodotto di reazione era inviato a Ballio per la massa e a Casinovi per la risonanza magnetica nucleare. I risultati di questi studi, che poi avremmo discusso e ridiscusso, ci venivano comunicati in vari modi. Ballio, ad esempio, ci consegnava o lasciava sulle nostre scrivanie minuscoli frammenti di carta in cui erano altrettanto minutamente riportati i risultati della frammentazione e le relative implicazioni strutturali. Con Casinovi era diverso. All'una circa, e quasi ogni giorno, il «gruppetto della Fusicoccina», con Casinovi in testa, si ritrovava all'ingresso di via del Castro Laurenziano e si dirigeva verso una trattoria di San Lorenzo, sempre la stessa, dove avrebbe già trovato preparato da Marcello, il proprietario, un tavolo con una tovaglia di carta su cui, man mano che il pranzo avanzava, venivano disegnati, sino a riempirla, calcoli di coupling, frammenti e relative ipotesi strutturali che, col passare dei mesi, dive-

nivano sempre più elaborate. Un esempio rappresentativo di frammenti generati sulla base delle reazioni effettuate sulla fusicoccina è riportato nella Fig. 4.

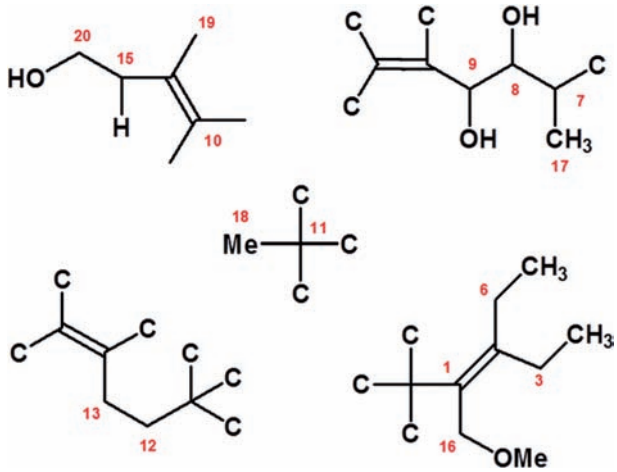


Fig. 4. Frammenti della Fusicoccina prima di essere assemblati.

La tappa successiva era l'assemblaggio di questi frammenti, con ipotesi che venivano discusse e ridiscusse. E questo accadeva per ogni prodotto significativo generato da ogni nuova reazione.

In occasione di questo incontro, ho ripreso i miei vecchi quaderni di laboratorio (Fig. 5), e con rinnovato rammarico, mi sono reso conto che la maggior parte delle reazioni organiche da noi effettuate vi è rimasta «sepolta». Nell'unico lavoro dedicato alla scoperta della struttura della Fusicoccina, infatti, è riportata – e descritta nel modo succinto richiesto da una comunicazione – solo una minima parte delle reazioni da noi effettuate. Ed in ogni incontro con Ballio, nel corso degli anni, ci siamo detti che dovevamo farlo, che dovevamo «trovare il modo di sederci» e raccogliere e organizzare e pubblicare in un lavoro completo tutto il materiale sperimentale accumulato nel corso dei tre anni occorsi per la determinazione strutturale della Fusicoccina. Ma c'erano sempre altre priorità…

Ora, in occasione di questo incontro, e come espressione del mio tributo a Sandro Ballio riporto per la prima volta in una forma grafica completa le reazioni che più delle altre hanno permesso di svelare, ognuna parzialmente, e nel modo sopra descritto, i segreti strutturali della Fusicoccina (Fig. 6).

La struttura della Fusicocina è completata. La pubblicazione. Gli inglesi.

All'inizio del 1967 le analisi NMR e i «patterns» di frammentazione di una serie di derivati chiave avevano permesso, come abbiamo visto, l'identificazione di un

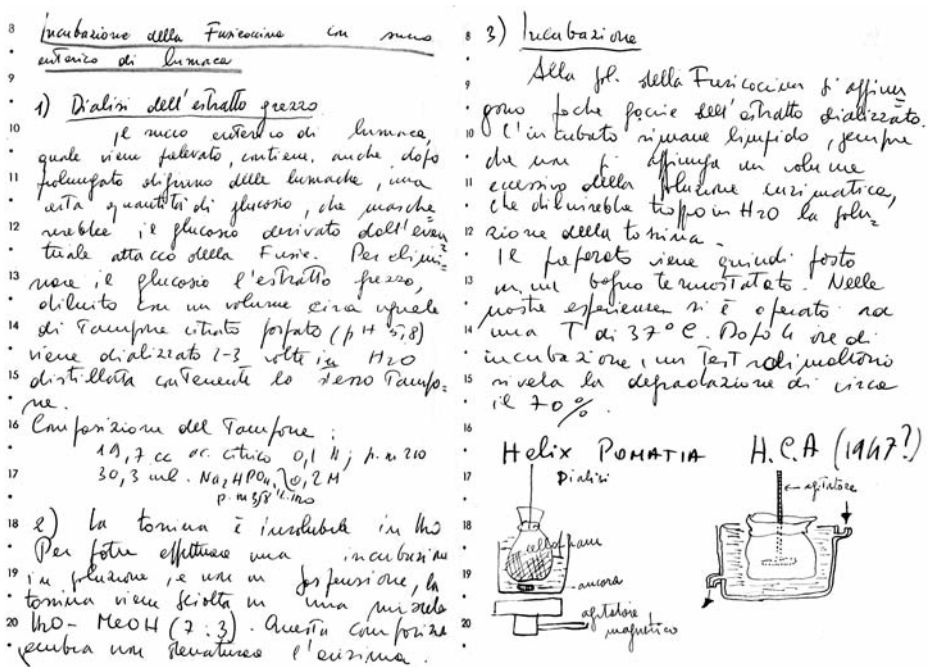


Fig. 5. Fusicoccina. Quaderni di laboratorio, 1966. Esempio di reazione enzimatica non pubblicata.

numero di frammenti chiave. Il loro lento assemblaggio permise infine a Ballio e Casinovi di identificare la presenza nella Fusicoccina di un nucleo 5-8-5 carbociclico, strutturalmente analogo a quello presente nelle ofioboline sesterpeniche, da cui tuttavia la Fusicoccina differiva per la mancanza di una unità isoprenica nella catena laterale. Infine, a metà circa del 1967, Ballio ci consegnò un foglietto in cui era disegnata la struttura della Fusicoccina quale derivato alfa-D-glucopiranosidico di un diterpene diciclopenta-[a,d]-cicloottanico sostituito. Serviva ora la conferma della struttura da noi assegnata, di cui non era stato possibile determinare con certezza la configurazione assoluta e quella relativa. Questi compiti erano affidati al gruppo dei cristallografi dell'Università di Roma, che avevano già iniziato l'analisi cristallografica ai raggi X dello iodobenzenesulfonilderivato dell'aglicone. Non c'è bisogno di dire con quanta soddisfazione apprendemmo che la struttura della Fusicoccina ricostruita sulla base dei calcoli dei dati cristallografici coincideva con la nostra e che sulla loro base era stato possibile assegnare la configurazione assoluta a tutti i centri chirali della molecola (Fig. 7). Erano gli inizi del 1968 e il nostro lavoro era terminato con successo anche prima del previsto.

Il problema che si poneva ora con urgenza era la scelta della rivista su cui pubblicare i risultati. Sapevamo che anche gli inglesi erano vicini alla risoluzione della struttura della Fusicoccina e la scelta della rivista assumeva una rilevanza strategica

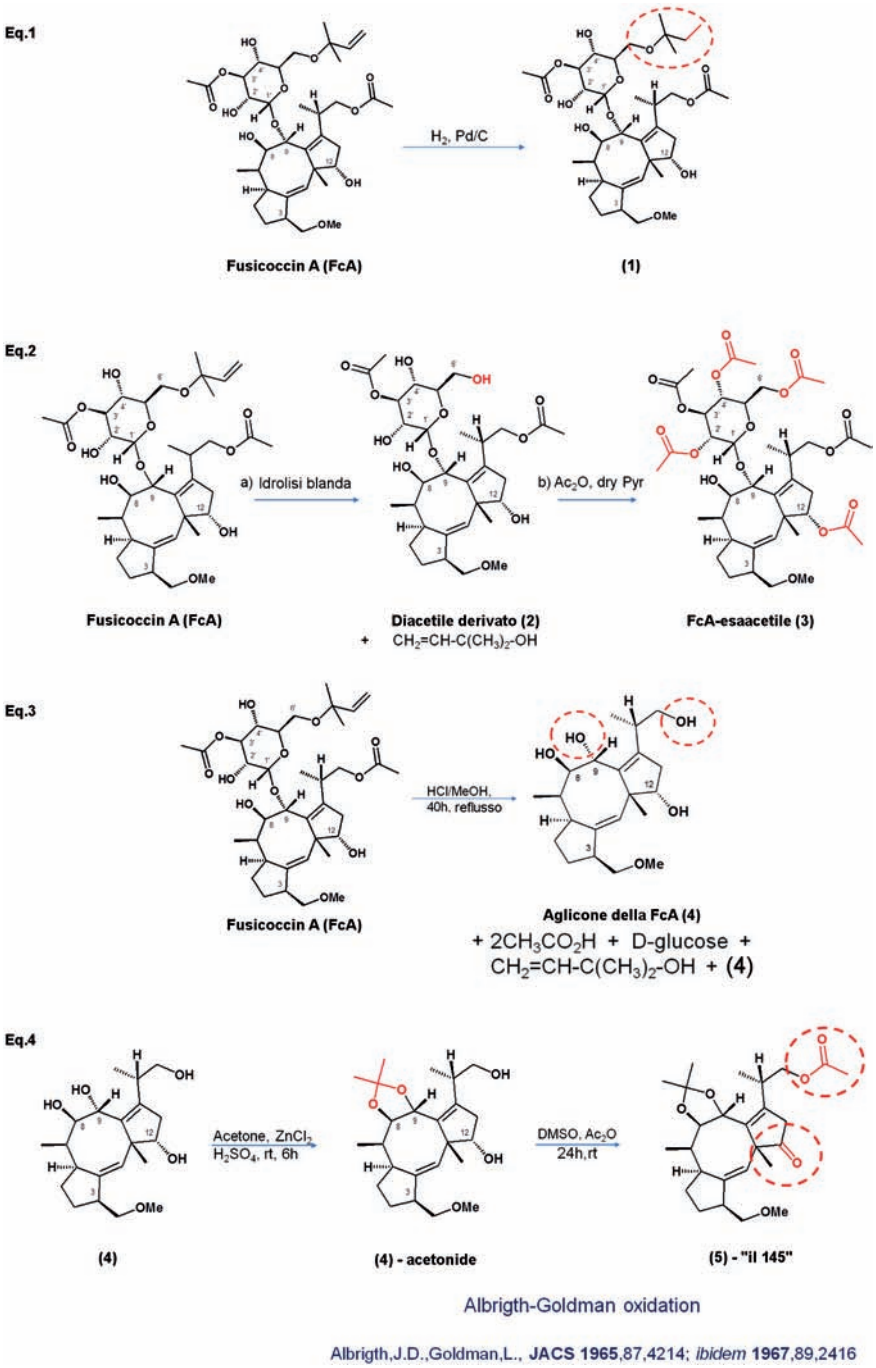


Fig. 6. Manipolazioni chimiche della Fusicoccina. Le reazioni «chiave».

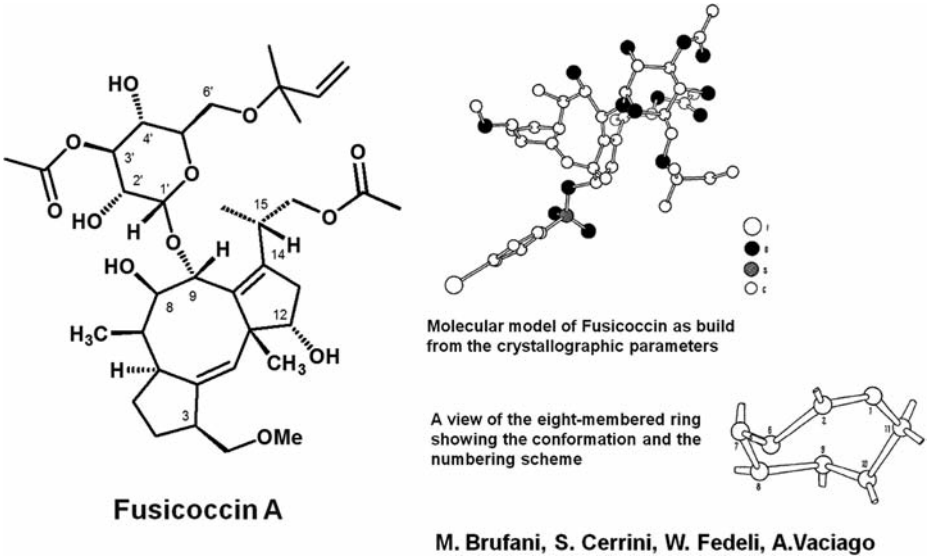


Fig. 7. Fusicoccina. Modelli molecolari derivati dall'analisi cristallografica.

sia per ragioni di priorità che di segretezza. Anche se non direttamente coinvolto nel lavoro, Marini Bettolo era partecipe di questo problema e fu lui, per quanto mi ricordo, a suggerire di pubblicare il lavoro su Experientia, una rivista scientifica svizzera, sulla base di più motivazioni. Experentia era, in quegli anni, una prestigiosa rivista scientifica in cui erano stati pubblicati lavori fondamentali di chimica organica quali quelli di Leopold Ruzicka sulla regola isoprenica (1953) e di Chain, Ingold e Prelog, sulle regole per la specificazione della configurazione assoluta in chimica organica (1956).

La seconda ragione era legata all'esigenza di rapidità nella pubblicazione ed alla necessità di mantenere riservato il manoscritto. Il rispetto di entrambi i requisiti fu assicurato mediante contatti diretti di Marini Bettolo e Ballio con Vladimir Prelog, dell'ETH di Zurigo, e dello stesso Ruzicka, uno degli editori della rivista. L'articolo fu così spedito in forma di comunicazione preliminare nel marzo 1968 (la data di ricevimento risultò quella del 19 marzo), accettato immediatamente e pubblicato dopo soli tre mesi, nel giugno 1968 (Fig. 8) [7].

Potevamo permetterci, finalmente, qualche momento di compassata euforia e concederci congratulazioni reciproche, certo con una giusta dose di «sprezzatura» in accordo con lo stile sobrio di chi ci aveva guidato fino al successo…

Nel frattempo anche il gruppo dell'Imperial College aveva assegnato alla Fusicoccina una struttura identica alla nostra. Le loro prime comunicazioni furono inviate a luglio e pubblicate nel primo numero di Chemical Communications dell'ottobre 1968 (Fig. 9) [8]. Pur con forze e strategie diverse, i due gruppi erano giunti ad

19 March 1968

SEPARATUM

EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores: P. Huber, Basel · R. Matthey, Lausanne · A. v. Muralt, Bern · L. Ruzicka, Zurich
Redactor: H. Muslin, Basel · Mainz

The Structure of Fusicoccin A

by A. Ballio, M. Brufani, C. G. Casinovi, S. Cerrini, W. Fedeli, R. Pellicciari, B. Santurbano and A. Vaciago, Roma and Napoli (Italy)

Laboratori di Chimica Biologica e Centro Internazionale di Chimica Microbiologica, Istituto Superiore di Sanità, Roma; and Laboratorio di Chimica delle Sostanze Naturali, Istituto Chimico dell'Università degli Studi, Napoli (Italy)

BIRKHÄUSER VERLAG BASEL (SCHWEIZ)

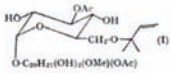
Fig. 8. Struttura della Fusicoccina: la pubblicazione su «*Experientia*».

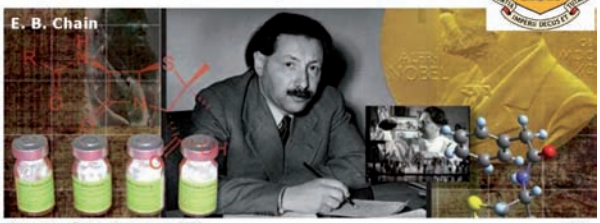
CHEMICAL COMMUNICATIONS, 1968 1195

Fusicoccin: Characterisation of the Oxygen Substituents

By K. D. Barrow, D. H. R. Barton, E. B. Chain,* C. Conlay, T. V. Smale, R. Thomas, and E. S. Waight
(*Departments of Biochemistry and Chemistry, Imperial College of Science and Technology, London S.W.7*)

Fusicoccin[1] (fusicoccin A) is a highly phytotoxic metabolite of *Fusicoccum amygdali* which has been assigned the molecular formula $C_{28}H_{44}O_{12}$. It was shown to yield one molecule of glucose on acid hydrolysis and to form dihydrofusicoccin on catalytic hydrogenation. The n.m.r. and microanalytical evidence indicated one methoxy- and two acetoxy-groups. We now report further results which permit the characterisation of the oxygen substituents as shown in the partial structure of fusicoccin (I).





CHEMICAL COMMUNICATIONS, 1968 1197

Crystallographic Studies of Fusicoccin and Two Mercuribromide Derivatives

By E. Hough, M. B. Hursthouse, S. Neidle, and D. Rogers*
(*Chemical Crystallography Laboratory, Imperial College, London, S.W.7.*)

Attempts to determine the structure of fusicoccin by *X*-ray analysis have proceeded simultaneously with the chemical studies summarised in the

with Cu-K_α radiation on an automatic diffractometer for a succession of six crystals. The solution

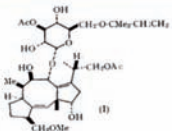
CHEMICAL COMMUNICATIONS, 1968 1198

The Constitution of Fusicoccin

By K. D. Barrow, D. H. R. Barton,* E. B. Chain, U. F. W. Ohnsorge, and R. Thomas
(*Departments of Chemistry and Biochemistry, Imperial College, London S.W.7*)

In preliminary experiments[1,2] the functional groups of fusicoccin were characterised and the parent aglycone, $C_{24}H_{34}O_8$, obtained by degradation. We present chemical evidence to support the constitutions (I) for fusicoccin and (IIa) for the aglycone. The constitution and stereochemistry of the latter have been established by *X*-ray crystallography.[3]

The aglycone (IIa) forms a tetra-acetate (IIb), m.p. 111—112° $[\alpha]_D$ −69° (all $[\alpha]_D$ in $CHCl_3$ at *c* 1—2, unless stated otherwise), a tetrabenzoate (IIc), m.p. 159—160°, $[\alpha]_D$ −75°, and an acetonide (IId), m.p. 149—150°, $[\alpha]_D$ +32°. (All new compounds have been adequately characterised by microanalytical and/or mass spectral data.) The



After Professor Rogers[3] had informed us of the *X*-ray results on compound (Va), and whilst preparing the drafts of this manuscript, we received at Imperial College the important article by A. Ballio and his colleagues[7] in which the full structure, including absolute configuration, of fusicoccin is also given. The results of the two sets of investigations are in complete accord.

(Received, July 8th, 1968; Com. 925)

Fig. 9. Struttura della Fusicoccina: le comunicazioni del gruppo dell'Imperial College.

assegnare alla Fusicoccina la stessa struttura, con una priorità italiana nella data di invio e di pubblicazione che il gruppo inglese riconobbe con «fair play» in una nota della loro prima comunicazione.

Le nuove vie della fusicoccina dopo la struttura

La pubblicazione su Experientia chiudeva, nella primavera del 1968, la lunga fase della storia della Fusicoccina dedicata in gran parte allo studio delle sue proprietà chimiche e strutturali. E i risultati ottenuti non erano fini a se stessi, ma sarebbero serviti da stimolo a nuove ricerche per vie diverse.

All'ISS un gruppo guidato da Ballio e comprendente, tra gli altri, Carlo Giulio Casinovi e Giuliano Grandolini, un valente ricercatore recentemente scomparso, si dedicò, fino a metà degli anni settanta, all'isolamento dall'estratto di Fusicoccum di metaboliti e di analoghi della Fusicoccina ed alla loro identificazione [9].

La conoscenza delle proprietà chimiche e strutturali della Fusicoccina dava un impulso particolare allo studio del meccanismo della sua attività fitotossica a livello molecolare e, più in generale, alle caratterizzazione delle sue proprietà fisiologiche e farmacologiche. Ballio si dedicò con grande impegno a queste ricerche nell'Università di Napoli fino al 1974, e poi nell'Università di Roma (Fig. 10) dove ancora proseguono attivamente ad opera di una sua allieva, Patrizia Alducci, e del suo gruppo [10].

La storia della Fusicoccina è il racconto di un grande successo scientifico italiano che, a distanza di cinquanta anni dal suo inizio dà ancora frutti importanti e non solo in Italia. Studiata inizialmente per le sua attività fitotossica, la Fusicoccina è oggi ampiamente impiegata come «chemical tool» in studi di fisiologia animale e vegetale e considerata un interessante «druggable lead» per la sua proprietà di stabilizzare in modo selettivo, mediante interazioni di tipo proteina-proteina, l'aggregazione di proteine regolatorie di tipo 14-3-3 con una varietà di partners quali la H^+ ATPasi [11].

Sandro Ballio ha avuto il ruolo fondamentale in questa storia, in cui ha profuso le sue grandi doti scientifiche, la sua capacità organizzativa, il suo carisma.

La mia storia con la Fusoccina è invece terminata nella primavera del 1968. Avevo accettato la proposta di Marini Bettolo di andare in Venezuela per isolare e studiare prodotti naturali della medicina popolare indigena in un laboratorio ancora da costruire ed ero partito subito dopo la pubblicazione del nostro lavoro [12]. Un mondo mi separava, a dicembre del 1968, da quello in cui ero timidamente entrato nel 1965 (Fig. 11). Mi attendeva un'impresa difficile, ma che affrontavo con tranquillità. Quella di chi aveva vissuta, vincendola, una grande sfida scientifica sotto la guida di un grande maestro di scienza e di vita. Nell'Istituto Superiore di Sanità. Ai tempi della Fusicoccina.

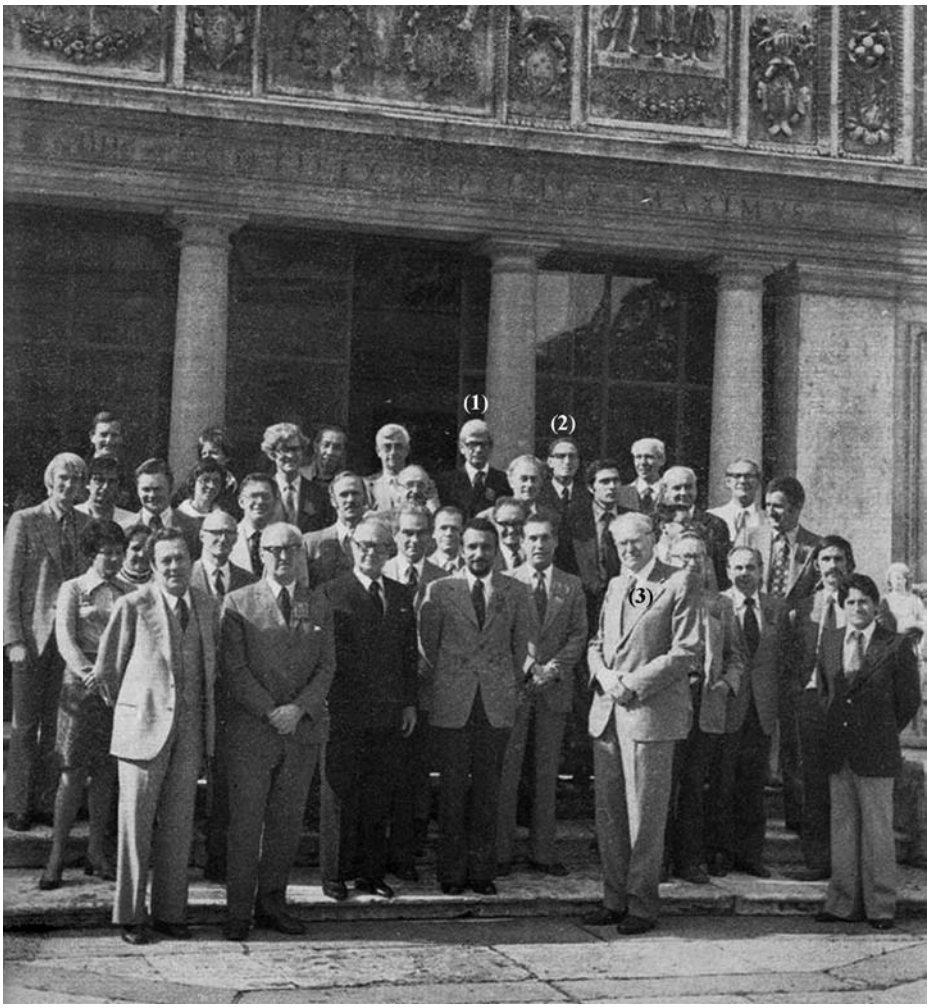


Fig. 10. Convegno sulle Fitotossine. Accademia Pontificia delle Scienze (1978). (1) A. Ballio, (2) A. Graniti, (3) G. B. Marini Bettòlo.

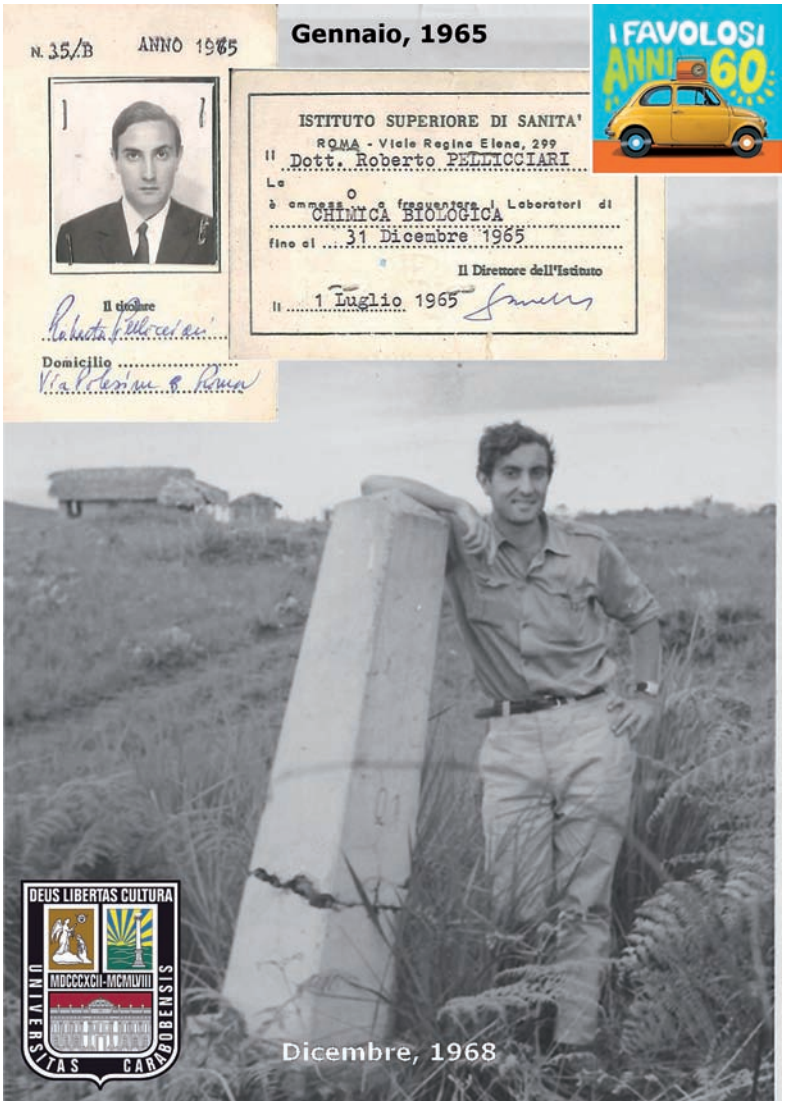


Fig. 11. Il mondo dell'Autore negli anni '60.

BIBLIOGRAFIA

[1] R. Pellicciari, F. Delle Monache, N.L. Reyes, C.G. Casinovi, G.B. Marini Bettolo, *Ann. Ist. Super. Sanità*, **1966**, 2, 411.
[2] A. Graniti, *Phytopath. Medit.*, 1962, 1, 182: *ibidem*, **1964**, 3, 125.
[3] A. Ballio, C. Casinovi, G. Serlupi-Crescenzi, *Biochim. Biophys. Acta*, **1956**, 20, 414; A. Ballio, G. Serlupi-Crescenzi, *Nature*, **1957**, 179, 154.
[4] A. Ballio, E.B. Chain, P. De Leo, B.F. Erlanger, M. Mauri, A. Tonolo, *Nature*, **1964**, 203, 297.
[5] A. Ballio, E.B. Chain, F. Dentici d'Accadia, G.N. Robinson, F.R. Batchelor, *Nature*, **1959**, 183, 180.
[6] A. Ballio, A. Carilli, B. Santurbano, L. Tuttobello, *Ann. Ist. Super. Sanità*, **1968**, 4, 317 e referenze citate.
[7] A. Ballio, M. Brufani, G.C. Casinovi, W. Fedeli, R. Pellicciari, B. Santurbano, A. Vaciago, *Experentia*, **1968**, 24, 631.
[8] K.D. Barrow, D.H.R. Barton, E.B. Chain, C. Conlay, T.V. Smale, R. Thomas, E.S. Waight, *Chemical Communication*, **1968**, 1195-1197; E. Hough, M.B. Hursthouse, S. Neidle, D. Rogers, *Chemical Communication*, **1968**, 1197-1198; D. Barrow, D.H.R. Barton, E.B. Chain, W.F.W. Ohnsorge R. Thomas, *Chemical Communication*, **1968**, 1198-1200.
[9] A. Ballio, C.G Casinovi, M. Framondino, G. Grandolini, G. Randazzo, C. Rossi, *Experientia*, **1972**, 28, 1150; A. Ballio, C.G. Casinovi, M. Framondino, G. Grandolini, F. Menichini, G. Randazzo, C. Rossi, **1972**, 28, 126; A. Ballio, C.G. Casinovi, G. Grandolini, G. Randazzo, C. Rossi, M. Sorrentino, *Experientia*, **1974**, 30, 1108; A. Ballio, C.G. Casinovi, V. D'Alessio, G. Grandolini, G. Randazzo, C. Rossi, *Experientia*, **1974**, 30, 843; A. Ballio, C.G. Casinovi, G. Grandolini, M. Pomponi, G. Randazzo, C. Rossi, *Gazz. Chim. Ital.*, **1975**, 105, 1325; A. Ballio, C.G. Casinovi, G. Grandolini, M. Marta, G. Randazzo, *Gazz. Chim. Ital.*, **1975**, 105, 651.
[10] A. Paiardini, P. Aducci, L. Cervoni, F. Cutruzzola, C.D. Lucente, G. Janson, S. Pascarella, S. Rinaldo, S. Visconti, L. Camoni, *IUBMB Life*, **2014**, 52.
[11] M. Bartel, A. Schafer, L.M. Stevens, C. Ottmann, *Future Med Chem*, **2014**, 6, 903.
[12] R. Pellicciari, «Un ricordo dell'opera eclettica di Giovanni Battista Marini Bettolo», Accademia Nazionale delle Scienze, Aracne editrice, **2014**, 65.