

LUIGI CERRUTI (*)

La difficile ricerca della 'cortina'.

Struttura chimica e attività fisiologica, 1928-1954 (**)

Summary - In 1928 F. Hartman named 'cortin' the hormone secreted by the adrenal cortex. The name was echoing the insulin name, by then the most important and useful outcome of the research on the endocrine glands, and it was wishing the new substance a fortunate fate. However nobody could foresee how long was the way which led from the gland extracts used in Addison's disease therapy in the late 1920s to cortison, the wonder drug of the late 1940s. In effect the isolation and the identification of the active principle of the adrenal cortex presented many problems, from the chemical and physiological points of view, and 'the way to cortison' was not only long, but also not at all straight. In this paper it is shown that the research lines of organic chemists, biochemists and physiologists faced several obstacles: the number of more or less 'active' substances found in the extracts; the objective complexity of the physiological activity of the adrenal cortex; the multifarious array of bioassays employed in testing the activity of the isolated substances. In the biochemical field, E.C. Kendall's contribute is contrasted with that by T. Reichstein, while in the field of endocrinology it is analysed the uncertain situation of the scientific community as it was shown in 1937, at the Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology. Finally, the attention is on the first correlation of molecular structure towards physiological activity, based on the distinction between gluco- and mineralcorticoids. In this connection, it is to be emphasised that the ontologically ambiguous reference to 'cortin' remained in scientific literature for many years after the confirmation that adrenal cortex extracts contained several active substances. The narrative ends up with the isolation of aldosterone in the first 1950s, through the joint efforts of Tait, Simpson, Reichstein and Wettstein.

Paper conclusions stress three points. The embittered competition forbade any collaboration among the 'cortin hunters' on a crucial question: what was the physiopathological meaning of the numerous (cruel) tests on animals. The two leading groups gave a different contribution to the solution of the 'cortin' problem: Kendall's team improved the knowledge about the structure/activity relationship, and Reichstein's laboratory mastered the chemical side of research (isolation procedures and molecular structure determination). At last, the personal research styles of the two protagonists were strikingly different: Kendall's style was excited, careless and even imprudent; Reichstein's style was powerful, learned, cautious and even too circumspect in the theoretical conclusions. Both the scientists won the Nobel Prize; thus it is clear that the Nobel Prize is not a question of style.

(*) Dipartimento di Chimica Generale ed Organica Applicata, Università di Torino.
E-mail: LCerruti@silver.ch.unito.it

(**) Relazione presentata al VII Convegno Nazionale di «Storia e Fondamenti della Chimica» (L'Aquila, 8-11 ottobre 1997).

Fin dalla seconda metà del secolo XIX gli scienziati impegnati nello studio delle secrezioni endocrine hanno costituito una comunità assai composita, e per questo piuttosto interessante. Utilizzando le denominazioni professionali a noi contemporanee vi si ritrovano biochimici, chimici organici, fisiologi, endocrinologi, clinici. Alla fine degli anni 1920 per la prima volta vennero somministrati a malati del morbo di Addison estratti corticosurrenali in grado di mantenerli in vita. Fu l'inizio di una corsa al riconoscimento e all'isolamento dell'ormone secreto dalle cortecce surrenaliche, chiamato 'cortina' nel 1928, in chiara assonanza con l'insulina (bovina) che pochi anni prima si era dimostrata in grado di contrastare l'insufficienza cronica dei diabetici. In realtà nulla era noto sull'attività fisiologica della 'cortina', ed anzi si poteva dubitare della sua stessa esistenza, in quanto si sapeva solo che l'organo che — forse — la produceva era indispensabile a mantenere in vita gli esseri umani e gli animali.

Diverse linee di ricerca confluirono nello studio della 'cortina'. In questa comunicazione in primo luogo analizzeremo le indagini dei biochimici e dei chimici organici impegnati nell'isolamento dei principi attivi (si dimostreranno essere parecchi), nella determinazione della loro struttura ed infine nella correlazione delle strutture molecolari con gli effetti fisiologici delle sostanze. In secondo luogo vedremo come questa 'correlazione' sarà estremamente difficile per tutto il periodo studiato, sia per l'intrinseca complessità dell'attività fisiologica degli ormoni corticosurrenali, sia per la moltitudine quasi idiosincratica di saggi biologici proposti da biochimici e fisiologi durante la più che decennale caccia alla 'cortina'. Per l'area di indagine propria dei biochimici il lavoro di Kendall sarà messo in contrasto con quello di Reichstein; per l'area più legata all'endocrinologia seguiremo l'incerta situazione emersa al Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology del 1937, e si vedrà come solo nei primi anni '40 vennero fatte le prime correlazioni struttura-attività affidabili, basate sulla distinzione fra glucocorticoidi e mineralocorticoidi. Per quanto riguarda questi ultimi, infine, noteremo come solo fra il 1953 e il 1954 gli sforzi congiunti dei laboratori della Middlesex Hospital Medical School, della CIBA e dell'Università di Basilea, portarono all'isolamento dell'aldosterone e alla determinazione della sua struttura.

Gli estratti corticosurrenali e la 'cortina' stessa hanno la loro lontana origine nelle ricerche di un medico inglese di nome Thomas Addison. Nel 1855 egli pubblicò un'importante monografia in cui descriveva i sintomi di 11 pazienti colpiti da una particolare malattia di esito sempre infausto, pazienti la cui autopsia aveva rivelato gravi disordini nelle ghiandole surrenaliche. Fra i sintomi i più rilevanti erano una particolare colorazione bronzea della pelle, anemia ed una generale debolezza muscolare.¹ La monografia fu immediatamente apprezzata.

¹ T. ADDISON, *On the Constitutional and Local Effects of Disease of the Supra-Renal Capsules*, London: Highley, 1855.

zata come un importante contributo alla letteratura medica, anche se il 'morbo di Addison' tardò ad essere accettato come sindrome connessa ad una specifica malattia delle surreni.² In ogni caso all'attenzione del mondo medico era stata portata per la prima volta una prova che le ghiandole surrenaliche avevano una funzione essenziale, vitale, nell'economia dell'organismo, ed una conferma sperimentale giunse nell'agosto 1856, quando Charles Brown-Séquard, un medico anglo-francese, presentò all'Accademia delle Scienze di Parigi una memoria in cui affermava che le surreni erano necessarie per la sopravvivenza di parecchie specie animali (gatti, cani, cavie, conigli e topi), in quanto tutti gli esemplari a cui erano state estirpate chirurgicamente le ghiandole erano invariabilmente e rapidamente morti.³ Alla nota di Brown-Séquard seguirono altre ricerche, in parte avverse ai suoi risultati;⁴ nei decenni successivi si ammise che le surreni erano indispensabili per l'organismo, anche se a proposito della loro funzione i fisiologi potevano far solo congetture. Brown-Séquard era convinto che esse depurassero l'organismo da qualche pigmento tossico, il cui accumulo mortale portava alla colorazione della pelle segnalata da Addison — e alla morte.⁵ Nel 1895 un primo chiarimento venne da G. Oliver e E.A. Schäfer, due ricercatori inglesi che individuarono l'attività vasocostrittrice della ghiandola; essa è dovuta al secreto midollare, il cui principio attivo, l'adrenalina, fu cristallizzato nel 1901 e sintetizzato nel 1904. Solo nel 1910, quando il concetto di ormone si andava consolidando, A. Biedl dimostò che la funzione indispensabile per la vita è svolta esclusivamente dalla corteccia,⁶ una 'parte' delle surreni che è istologicamente diversa dalla 'parte' midollare. In effetti si tratta di ghiandole distinte, che solo l'evoluzione ha portato ad una stretta contiguità.

I tentativi di ottenere estratti surrenalici utili per la terapia del morbo di Addison iniziarono con lo stesso Brown-Séquard nel 1889, con risultati insoddisfacenti.⁷ Anche negli anni successivi, la sorte dei numerosi tentativi, in generale condotti con estratti ottenuti con solventi acquosi, non fu diversa, e nel 1897 un rapporto stilato negli Stati Uniti nel periodo di fioritura dell'opoterapia⁸ regi-

² M.J. AMINOFF, *Brown-Séquard. A Visionary of Science*, New York, Raven Press, 1993, p. 162.

³ E. BROWN-SÉQUARD, «Recherches expérimentales sur la physiologie et la pathologie des capsules surrénales», *C.R.*, 43, pp. 422-425 (1856).

⁴ Venivano utilizzati ratti, animali che possono presentare ghiandole surrenaliche accessorie. Queste particolarità anatomiche vennero chiarite più tardi, tuttavia la questione della completezza dell'asportazione completa dei tessuti ghiandolari interessati rimase aperta ancora alla fine degli anni 1930.

⁵ M.J. AMINOFF, *Brown-Séquard. A Visionary of Science*, cit., p. 163.

⁶ R. DEBRÉ, G. DESBUQUOIS, «La médecine», in: R. Taton (a cura di), *Histoire générale des sciences*, t. III, *La science contemporaine*, vol. II, *Le XXe siècle*, Paris, PUF, 1983, pp. 799-894, cit. alla p. 831.

⁷ M.J. AMINOFF, *Brown-Séquard. A Visionary of Science*, cit., p. 168.

⁸ Sulla storia dell'opoterapia, ovvero sull'uso terapeutico di estratti di tessuti animali, sono interessanti alcuni contributi 'in tempo reale': L. HOPF, «Zur Geschichte der Organthe-

strava 36 esperimenti, condotti a partire dal 1892 e sempre con esiti incerti e temporanei. La scoperta di Biedl non migliorò la situazione, in quanto l'attenzione di fisiologi e terapeuti era completamente puntata sull'adrenalina. Solo nella seconda metà degli anni '20, il clamore suscitato dall'isolamento dell'insulina e dalla terapia del diabete rianimò la ricerca sulla corteccia surrenalica: Frank Hartman annunciò nel 1927 la messa a punto di un metodo di estrazione che eliminava ogni residuo pericoloso di adrenalina, e nel 1928 chiamò *cortin* l'ormone secreto dalla corteccia; nel 1929 Joseph J. Pfiffner e Wilbur W. Swingle presentarono il primo metodo pratico di preparazione di un concentrato in grado di mantenere in vita indefinitamente gatti privati delle surreni.⁹

Da questi estratti, fisiologicamente attivi e abbastanza concentrati, a più di venti anni dalla dimostrazione di Biedl dell'importanza del secreto corticosurrenalico, prese avvio la ricerca biochimica. Prima però di passare ad esaminare le tappe principali di questa ricerca va messo in rilievo un ostacolo epistemologico in gran parte inavvertito dai ricercatori dell'epoca. Nel 1964 Harold L. Mason (che qui citeremo più volte come biochimico della Mayo Clinic) ha sottolineato che quasi tutti assunsero che la corteccia producesse un solo, singolo, ormone; era una ipotesi basata su quanto si conosceva per il pancreas, la tiroide e la parte midollare delle stesse surreni.¹⁰ Va comunque segnalato che in un campo battuto come quello della ricerca biochimica sugli ormoni non potevano mancare voci diverse: nel 1933 E. Schmitz e J. Kühnau annunciarono di aver isolato ben tre composti dotati di attività fisiologica diversa;¹¹ il contenuto dell'articolo fu ripreso con un certo rilievo da B. Harrow e C.P. Sherwin in un loro volume sulla chimica degli ormoni, pubblicato a Baltimora nel 1934. Il paragrafo dedicato alla nota di Schmitz e Kühnau era intitolato «Più di un ormone?»,¹² ma il suggerimento dei due ricercatori tedeschi si basava su una base sperimentale del tutto inadeguata, ed infatti nel suo primo lavoro sugli ormoni corticosurrenalici Reichstein liquidò il lavoro di Schmitz e Kühnau mettendo in dubbio che i composti isolati da loro avessero qualcosa a che fare con l'ormone che si

rapie. Eine medicinisch-kulturgeschichtliche Studie», *Janus*, 3, 226-242 (1898); *ib.*, 4, 14-21, 64-69, 304-312 (1899); H. GRASSET, «Le renouveau médical. Secrétions internes et organothérapie», *Janus*, 5, 381-390 (1900); Grasset critica aspramente il termine 'opoterapia' in quanto si riferirebbe ad un modo improprio di estrazione. Il termine fu coniato dal medico francese Louis Landouzy nel 1898; v. G. COSMACINI, G. GAUDENZI, R. SATOLLI, *Dizionario di storia della salute*, Torino: Einaudi, 1996.

⁹ V.C. MEDVEI, *A History of Endocrinology*, Lancaster: MTP, 1982, p. 476.

¹⁰ H.L. MASON, «Only the Best Is Good Enough», *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 24, 1214-1218 (1964).

¹¹ E. SCHMITZ, J. KÜHNAU, «Über die innere Sekretion der Nebennierenrinde», *Biochem. Zeit.*, 259, 301-319 (1933).

¹² B. HARROW, C.P. SHERWIN, *The Chemistry of the Hormones*, Baltimore, Williams & Wilkins, 1934, p. 142.

Tab. I - E.C. Kendal: oscillazioni sul Composto E.

Modalità della comunicazione	Data	Formula bruta	Indicazioni strutturali	Fonte	'Informatore'****
ASBC*, New York	29-31 III '34	C ₂₀ H ₃₀ O ₅	una 'formula strutturale'	rif. 15	
<i>Proc. Mayo Clinic</i>	25 IV '34		un gruppo aldeidico, forme dimeriche e monomeriche	rif. 16	
ASBC*, Detroit	10-13 IV '35	C ₂₁ H ₃₄ O ₅	α-β-triidrossialdeide	rif. 17	Wintersteiner e Pfiffner
Atlantic City	11 IV '35	C ₂₁ H ₃₄ O ₅	3 ossidrili, un gruppo aldeidico e un legame etereo	rif. 25	P. Laquer
ACS**, Division of Organic Chemistry, S. Francisco	19-23 VIII '35	C ₂₁ H ₃₄ O ₅	3 ossidrili, un gruppo aldeidico e un legame etereo	rif. 18, 25	O. Wintersteiner K. Miescher
ASBC*, Washington	III '36	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	3 ossidrili, due carbonili	rif. 23	Wintersteiner e Pfiffner
<i>Proc. Mayo Clinic</i>	27 V '36	C ₂₁ H ₂₈ O ₅	3 ossidrili, due carbonili	rif. 23	
<i>J. Biol. Chem.</i>	ric. 13 VII '36 pubbl. IX '36	C ₂₁ H ₂₈ O ₅	3 ossidrili, due carbonili due doppi legami	rif. 29	

* American Society of Biological Chemists

** American Chemical Society

*** Fonti di informazioni per T. Reichstein

stava ricercando.¹³ Vedremo come l'ostacolo della semplificazione *una ghiandola-un ormone* fu avvertito e rimosso solo dopo un decennio di indagini fisiologiche, patologiche e biochimiche.

L'inizio della ricerca biochimica può essere fatto risalire al 1933 quando diversi gruppi di ricercatori americani iniziarono la caccia all'ormone della corteccia surrenalica. Qui seguirò da vicino solo le indagini condotte nel laboratorio biochimico di Edward C. Kendall,¹⁴ operante nella famosa Mayo Clinic di

¹³ T. REICHSTEIN, «Über Cortin, das Hormon der Nebennieren-rinde. I. Mitteilung», *Helv. Chim. Acta*, 19, 29-63 (1936), p. 31.

¹⁴ L'opera di riferimento più immediato per l'opera di Kendall è la sua autobiografia: E.C. KENDALL, *Cortisone*, New York, Scribner, 1971. Approfondirò altrove i problemi psicologici che trapelano dal titolo scelto per la propria autobiografia dal biochimico americano; ora sottolineo solo il fatto che il volume non ha alcun sottotitolo, e che nell'impostazione grafica del frontespizio la parola 'Cortisone' sembra indicare l'autore, e il nome 'Edward C. Kendall' sembra essere il titolo del libro.

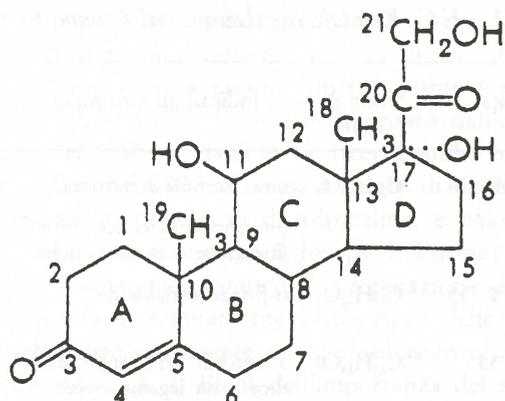


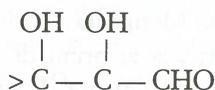
Fig. 1. Formula del cortisolo con la numerazione convenzionale degli atomi di carbonio. La nomenclatura adottata da Reichstein e da tutti successivi autori — prima della scoperta del cortisone — è riferita al *corticosterone*, di formula identica al cortisolo, eccetto che per l'assenza dell'ossidril in 17. I prodotti che risultarono attivi furono designati: *desossi-corticosterone* (privo di ossigeno in 11 e 17; Sostanza Q di Reichstein); *corticosterone* (ossidril in 11; Sostanza H, Composto B di Kendall); *11-deidro-corticosterone* (chetone in 11; Composto A); *17-idrossi-desossicorticosterone* (ossidril in 17; Sostanza S); *17-idrossi-corticosterone* (ossidril in 11 e 17; Sostanza M, Composto F: cortisolo); *17-idrossi-11-deidro-corticosterone* (chetone in 11, ossidril in 17; Sostanza Fa., Composto E: cortisone).

Rochester, Minnesota. Si tratta di una scelta ovvia se ci si basa sul 'senno di poi', e si pensa all'enorme risonanza che avrà, quindici anni dopo, l'annuncio fatto dalla Mayo Clinic dell'attività terapeutica del cortisone; tuttavia essa è giustificata da ben altre considerazioni. Basta infatti un'occhiata alla Tab. I, dove ho raccolto le varie congetture emesse fra il marzo 1934 e il luglio 1936 dal gruppo di Kendall, proprio a proposito di quel Composto E destinato a diventare il ben più celebre cortisone (per le strutture di riferimento v. Fig. 1).

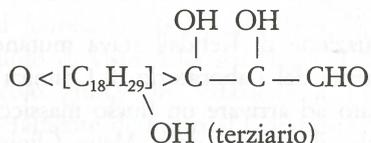
Il primo annuncio dell'isolamento di quello che di lì a poco sarà il Composto E venne dato al Convegno dell'American Society of Biological Chemists (ASBC) tenuto a New York nel marzo 1934. Il titolo della comunicazione sembra non lasciar dubbi sull'importanza della scoperta: «La natura chimica e l'azione fisiologica dell'ormone della corteccia surrenalica», e nemmeno nel riassunto pubblicato sul *Journal of Biological Chemistry* vi sono esitazioni. Nelle prime tre righe si legge: «L'ormone della corteccia surrenalica che è essenziale per la vita è stato separato in forma cristallina. La sua formula empirica è $C_{20}H_{30}O_5$. È stata assegnata una formula strutturale».¹⁵ Nell'aprile successivo la comunicazione

¹⁵ E.C. KENDALL, H.L. MASON, B.F. MCKENZIE, C.S. MYERS, G.A. KOELSCH, «The Chemical Nature and Physiological Action of the Hormone of the Suprarenal Cortex», *J. Biol. Chem.*, 105, xlv-xlvi (1934).

veniva riproposta alla Mayo Clinic, ma della struttura 'assegnata' si diceva soltanto che era presente un gruppo aldeidico, e che la sostanza si presentava in due 'forme', distinte dalla diversa solubilità in acqua.¹⁶ Nella primavera e nell'estate del 1935 Kendall discute la struttura della 'cortina' a Detroit, Atlantic City e San Francisco. È diventato più prudente, non a proposito del fatto cruciale di aver scoperto la cortina, quanto piuttosto sulla struttura da attribuire all'ormone. La formula bruta ha 'guadagnato' un atomo di carbonio e quattro atomi di idrogeno, diventando C₂₁H₃₄O₅. Inoltre i ricercatori della Mayo Clinic insistono (erroneamente) sul gruppo aldeidico; in aprile precisano la presenza in alfa e beta di due ossidrili, secondo la formula:



«Il composto è quindi un derivato della gliceraldeide». La distillazione aveva dato un idrocarburo di alto peso molecolare «apparentemente con tre anelli a sei membri completamente saturi». ¹⁷ In agosto, al Congresso annuale dell'American Chemical Society (ACS) 'precisano' ulteriormente i dati strutturali secondo la formula:



Il quinto atomo di ossigeno veniva descritto come partecipe di un gruppo etero inerte.¹⁸ Come sottolinea Miescher l'unico dato positivo — ovvero successivamente confermato — di questa proposta strutturale è la probabile presenza di una catena laterale di due atomi di carbonio, ricca di ossigeno. Nel 1936 la situazione conoscitiva del *team* di Kendall cambia rapidamente e radicalmente, sia per contributi propri, sia per la forte interazione con altri gruppi.

Al Convegno di Washington della ASBC, nel marzo 1936, i chimici della Mayo Clinic annunciano di aver isolato nove composti distinti dalla corteccia

¹⁶ E.C. KENDALL, H.L. MASON, B.F. MCKENZIE, C.S. MYERS, G.A. KOELSCH, «The Chemical Nature and Physiological Action of the Hormone of the Suprarenal Cortex», *Proc. Staff Meet. Mayo Clinic.*, 9, 245 (1934).

¹⁷ E.C. KENDALL, H.L. MASON, B.F. MCKENZIE, C.S. MYERS, «The chemical nature of cortin», *J. Biol. Chem.*, 109, 1 (1935).

¹⁸ K. MIESCHER, «Die Chemie der Nebennierenrindenhormone. Ihre Entwicklung in den letzten vier Jahren», *Angew. Chem.*, 51, 551-557 (1938), p. 552.

surrenalica, come composti 'originali',¹⁹ e come derivati e composti di degradazione. In questa comunicazione al Composto E viene ancora assegnata la formula $C_{21}H_{30}O_5$, ma allo stesso Convegno sono presenti O. Wintersteiner e J.J. PfiFFner del Dipartimento di Chimica Biologica della Columbia University. Pure il loro gruppo lavorava da anni sulla separazione dagli estratti della corteccia surrenalica di composti cristallini, e tuttavia, contrariamente a Kendall, non erano riusciti ad ottenere sostanze fisiologicamente attive,²⁰ almeno per quanto era rilevabile con il test messo a punto nel laboratorio biologico di Princeton.²¹ La messe di nuovi composti isolati era aumentata, però anche a Washington Wintersteiner e PfiFFner non possono annunciare nessun riscontro di attività fisiologica; in ogni caso sono ormai convinti dell'identità chimico-fisica di una loro sostanza di formula $C_{21}H_{28}O_5$ (designata Composto F) con il Composto E di Kendall. Essi ne hanno la certezza ai primi di aprile, in quanto dopo l'incontro di Washington il «dr. Kendall gentilmente [li aveva] riforniti di un campione del suo Composto E, allora ancora etichettato $C_{21}H_{30}O_5$ », e la sostanza di Kendall, mescolata con quella del gruppo della Columbia, non ne aveva abbassato il punto di fusione. Wintersteiner e PfiFFner comunicarono l'importante risultato a Kendall il 4 aprile; alla fine del maggio successivo il *team* della Mayo Clinic 'riscrive' la formula del Composto E, divenuto ora $C_{21}H_{28}O_5$,²² mantenendo le stesse indicazioni strutturali (v. Tab. I) e senza citare lo scambio di informazioni con i biochimici della Columbia.²³

Ma come ho detto la situazione di Kendall stava mutando radicalmente in quanto dall'Europa, e precisamente dal Laboratorio di Chimica Organica del Politecnico di Zurigo, era cominciato ad arrivare un flusso massiccio di articoli scritti da Tadeus Reichstein,²⁴ così che il gruppo della Mayo Clinic non sembra aver

¹⁹ Nel 1964 Harold Mason, che aveva collaborato con Kendall fin dal 1931, affermò: «Tra l'altro possiamo notare che gran parte del cortisone ottenuto dalle nostre surrenali bovine era probabilmente un prodotto *post mortem* derivato dal cortisolo, il vero ormone»; v.: H.L. MASON, *op. cit.*, rif. 10. Il testo riporta un discorso di Mason nella veste di Presidente dell'americana Endocrine Society.

²⁰ O. WINTERSTEINER, J.J. PFIFFNER, «Chemical Studies on the Adrenal Cortex. II. Isolation of Several Physiologically Inactive Crystalline Compounds from Active Extracts», *J. Biol. Chem.*, 111, 599-612 (1935).

²¹ J.J. PFIFFNER, W.W. SWINGLE, H.M. VARS, «The Cortical Hormone Requirement of the Adrenalectomized Dog, with Special Reference to a Method of Assay», *J. Biol. Chem.*, 104, 701-716 (1934).

²² E.C. KENDALL, H.L. MASON, C.S. MYERS, *Proc. Staff Meet. Mayo Clinic.*, 11, 351 (1936); cito dal rif. 23, p. 296.

²³ O. WINTERSTEINER, J.J. PFIFFNER, «Chemical Studies on the Adrenal Cortex. III. Isolation of Two New Physiologically Inactive Compounds», *J. Biol. Chem.*, 116, 290-305 (1936); nota n. 8, p. 296.

²⁴ Reichstein vinse il premio Nobel 1950 per la medicina o la fisiologia, insieme a Kendall e al reumatologo P.S. Hench, così si ritrovano suoi ritratti biografici in molti repertori. Il

tempo per le 'buone maniere' accademiche. Nel primo articolo, pubblicato nel gennaio del 1936, Reichstein aveva caratterizzato sette composti cristallini da lui isolati dalla corteccia surrenalica, nessuno dei quali però aveva presentato un'attività fisiologica simile a quella della cortina.²⁵ Uno di essi (un dichetone) aveva una formula bruta vicina a quella dell'ormone sessuale maschile; il chimico svizzero ne aveva così inviato un campione a E. Laqueur, lo studioso olandese che nel 1935 aveva coronato le sue lunghe ricerche sugli ormoni isolando e caratterizzando il testosterone. Laqueur rispose che mentre il test dell'estro del topo era risultato negativo, quello della crescita della cresta del cappone aveva indicato una sostanza molto attiva. Così nella sua seconda memoria, giunta alla redazione dell'*Helvetica Chimica Acta* il 2 febbraio 1936, e pubblicata a metà marzo, Reichstein mette a segno un colpo magistrale. Anzi due: aveva isolato la quarta sostanza conosciuta con questo tipo di attività ormonale, e — più importante — aveva ottenuto la chiave interpretativa per la struttura dei composti che costituivano la 'serie' (*Reihe*) della cortina.²⁶ Infatti dopo un mese e mezzo, mentre i biochimici americani erano riuniti a Washington, Reichstein inviava all'*Helvetica Chimica Acta* una nota che sarà pubblicata all'inizio di maggio. In essa confermava per i derivati corticosurrenalici lo scheletro fondamentale del pregnano, in quanto attraverso opportune ossidazioni aveva ricondotto tre delle sostanze isolate ad un unico chetone, attivo nel test della cresta del cappone.²⁷ Come si vede i risultati di Reichstein erano eccellenti, e la competizione si era fatta assai accanita. In luglio i due gruppi statunitensi inviano al *Journal of Biological Chemistry* due articoli piuttosto interessanti (anche dal punto di vista della sociologia della scienza).

Il primo articolo giunge in redazione il 13 luglio, proviene dalla Mayo Clinic, ed è completamente dedicato al Composto E. Fin dal momento della scoperta questa sostanza biologicamente attiva aveva letteralmente affascinato Kendall, e, in ogni passo del lungo cammino che porterà all'inatteso trionfo del cortisone, il biochimico americano cercherà di difendere anche al di là del lecito la priorità di ogni informazione riguardante questo composto. All'interesse iniziale si era aggiunto un fatto nuovo, e cioè l'intensa *attività fisiologica* dimostrata dal

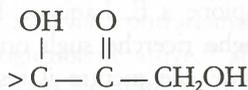
più accurato mi sembra essere quello dato da: J.R. PHILIPS, «Tadeus Reichstein», in F.N. Magili (a cura di), *The Nobel Prize Winners. Physiology or Medicine*, Pasadena: Salem Press, 1991, pp. 617-623.

²⁵ T. REICHSTEIN, «Über Cortin, das Hormon der Nebennieren-rinde. I. Mitteilung», *op. cit.*, rif. 13. I test fisiologici erano stati realizzati da P. de Frémery presso la ditta olandese Organon. Su tutta la questione controversa dei test fisiologici tornerò più oltre.

²⁶ T. REICHSTEIN, «Adrenosteron». Über die Bestandteile der Nebennierenrinde. II. Vorläufige Mitteilung», *Helv. Chim. Acta*, 19, 223-225 (1936). Oltre al già citato testosterone isolato direttamente dalle gonadi, nell'urina erano stati individuati da Butenandt nel 1933 l'androsterone e il trans-deidro-androsterone, v. nota 4 della comunicazione di Reichstein.

²⁷ T. REICHSTEIN, «Über die Bestandteile der Nebennierenrinde. IV. Mitteilung», *Helv. Chim. Acta*, 19, 402-412 (1936). In realtà il 'dichetone' che per più di un anno agiterà le menti dei biochimici impegnati sui composti corticosurrenalici risulterà essere un trichetone (v. oltre).

Composto E in un nuovo test, ora disponibile alla Mayo Clinic e messo a punto da D.J. Ingle. In effetti, per quanto riguarda la *struttura* del Composto E, la nota di Kendall non contiene nulla di giusto che non sia già contenuto nell'articolo di Reichstein di maggio, e cioè la struttura dello scheletro tipo pregnano e la catena laterale corretta:²⁸



A questi dati però i ricercatori della Mayo Clinic aggiungono due indicazioni che risulteranno errate. Un uso piuttosto acritico della reazione di Grignard li porta ad assumere la presenza di tre ossidrili e di (meno di) due carbonili,²⁹ invece dei due ossidrili e dei tre carbonili effettivi.³⁰ Il secondo errore discende dal primo: i due atomi di idrogeno impegnati nell'inesistente gruppo >CHOH vengono sottratti allo scheletro, che così, secondo gli autori statunitensi, ha due doppi legami invece di uno solo.³¹ Sulla via già battuta da Reichstein, Kendall riesce comunque ad ottenere dal Composto E un chetone attivo nel test di stimolazione della crescita della cresta del caprone. I debiti conoscitivi di Kendall nei confronti di Reichstein sono evidenti, ma non così per l'autore statunitense che scrive soddisfatto: «La trasformazione di un composto che ha l'azione qualitativa della cortina in una sostanza che ha un'attività fisiologica simile a quella dell'androsterone collega definitivamente la cortina con il sistema di anelli dello sterolo». A questo punto sono citati i due lavori di Reichstein pubblicati a febbraio e maggio,³² e i chimici americani fanno finta di leggere male il tedesco: «Egli [Reichstein] ha anche degradato un altro composto (*another compound*) trovato nella ghiandola ad un chetone che ha una simile attività». In realtà Reichstein aveva addirittura evidenziato nel testo il riferimento ai tre composti che davano il medesimo chetone fisiologicamente attivo: «*La stretta affinità delle sostanze A, C e D è così dimostrata*».³³ Ma a Kendall preme

²⁸ *Ib.*, pp. 403 e 406.

²⁹ H.L. MASON, C.S. MYERS, E.C. KENDALL, «Chemical Studies of the Suprarenal Cortex. II. The identification of a substance which possesses the qualitative action of cortin; its conversion into a diketone closely related to androstenedione», *J. Biol. Chem.*, 116, 267-276 (1936), alla p. 269.

³⁰ Per un'analisi delle cause dell'errore analitico compiuto dal gruppo della Mayo Clinic si veda: T. REICHSTEIN, «Chemie des Cortins und seiner Begleitstoffe», in: L. Ruzicka, W. Stepp (a cura di), *Ergebnisse der Vitamin- und Hormonforschung*, vol. 1, Leipzig: Akademische V., 1938, pp. 334-370, alla p. 358.

³¹ Rif. 29, p. 270. L'uso incauto della reazione di Grignard è l'unica 'conferma', puramente analitica, del secondo doppio legame anche nei derivati del Composto E ottenuti da Kendall.

³² Sono rispettivamente i rif. 26 e 27, già discussi precedentemente.

³³ Rif. 27, p. 404.

solo il poter trarre una conclusione pretestuosa, o meglio *unfair*: «Questa particolare azione fisiologica fornisce una forte evidenza presuntiva per la presenza del sistema di anelli dello sterolo, ma, dato che nessuno dei composti descritti da Reichstein possiede un'attività simile a quella della cortina, i risultati non forniscono un'evidenza che colleghi la cortina con un simile sistema di anelli».³⁴

Il secondo articolo per noi rilevante che giunse al *Journal of Biological Chemistry* nel luglio 1936 aveva come autori Wintersteiner e Pfiffner. I due biochimici della Columbia University erano divisi da quelli della Mayo Clinic non solo dalla scortesìa della mancata citazione a proposito della correzione della formula bruta del Composto E, ma in modo meno personale e più argomentabile sono separati anche da fatti ed interpretazioni divergenti.³⁵ Le 'scoperte' della Mayo Clinic sono ridimensionate: «Le formule strutturali elaborate dagli operatori della Mayo Clinic per il loro Composto E e il dichetone androgenico da esso derivato sono totalmente analoghe alle formule proposte per primo da Reichstein per i suoi composti».³⁶ La critica di Wintersteiner e Pfiffner diventa molto circostanziata a proposito del secondo doppio legame proposto da Kendall, la cui realtà respingono decisamente, mentre il contrasto risulta addirittura insanabile a proposito dell'attività fisiologica del Composto E di Kendall, perché il test di sopravvivenza dei cani adrenoprivi da loro utilizzato si ostina a dare risultati negativi.

I due articoli che abbiamo appena finito di scorrere apparvero sul fascicolo di novembre del *Journal of Biological Chemistry*. A quella data stavano per diventare definitivi i progressi compiuti da Reichstein per la determinazione della struttura dei composti corticosurrenali.

Il contributo di Tadeus Reichstein alla ricerca sugli ormoni corticosurrenali aveva avuto infatti un salto di qualità improvviso con l'utilizzo di una nuova tecnica di isolamento e separazione di aldeidi e chetoni, messa a punto e brevettata in Francia nel 1935 da A. Girard e G. Sandulescu.³⁷ Nel primo lavoro in cui usa il nuovo reattivo (datato 29 agosto 1936) Reichstein fin dalle prime righe ringrazia Girard per avergli comunicato le modalità di applicazione, e permesso

³⁴ Rif. 29, pp. 268-269.

³⁵ Quasi per contrasto i due autori sono invece completamente dalla parte di Reichstein per quanto riguarda la scoperta della connessione dei composti corticosurrenali con gli ormoni sessuali maschili («un'osservazione molto importante», cit. dal testo principale). Senza alcun tentativo di rivendicazione Wintersteiner e Pfiffner scrivono, in nota: «Anche noi avevamo ottenuto questo chetone qualche tempo prima della pubblicazione dei risultati di Reichstein». Va pure ricordato che avevano richiesto e ottenuto da Reichstein dei campioni, che in un paio di casi erano risultati coincidenti con quelli isolati da loro; rif. 23, p. 291.

³⁶ Rif. 23, p. 296.

³⁷ A. GIRARD, G. SANDULESCU, «Sur une nouvelle série de réactifs du groupe carbonyle», *Helv. Chim. Acta*, 19, 1095-1107 (1936); è il testo, datato da Parigi, di una comunicazione fatta alla Società Chimica Svizzera il 28 agosto 1936.

l'uso del reattivo prima della pubblicazione dei risultati.³⁸ Con questo nuovo metodo di separazione il chimico svizzero ripercorre l'intero cammino che porta dagli estratti ai composti cristalli, e, come si legge già nel titolo, aggiunge nuove sostanze alla sua notevole collezione. In questo caso la più rilevante è quella denominata *Substanz Fa.*; per tutte le caratteristiche chimico-fisiche essa coincide con il Composto E di Kendall, ma per l'aspetto cruciale dell'attività fisiologica ancora una volta Reichstein resta deluso, e in aperta contraddizione con i risultati della Mayo Clinic. La contraddizione era tanto più netta quanto più i test fisiologici impiegati dalle due parti dell'Atlantico parevano simili; infatti sia il test di Everse e de Frémery (usato dalla Organon), sia il test di Ingle (usato dalla Mayo Clinic) si basavano sulla stimolazione elettrica del muscolo della coscia del ratto. Le modalità di esecuzione erano estremamente diverse: poche contrazioni in successione nel primo caso, un affaticamento fino ad esaurimento nel secondo;³⁹ tuttavia solo con grande riluttanza i fisiologi e i biochimici si convinsero che questi test — come parecchi altri — dovevano essere correlati in *grado diverso* ad attività fisiologicamente diverse. Nella situazione conoscitiva del 1936 Reichstein non poteva che accettare il responso della Organon a cui inviava i suoi campioni cristallini,⁴⁰ così la sua Sostanza F.a. rimase inattiva; in ogni caso l'identificazione chimico-fisica era sicura e portava ad una critica recisa della struttura proposta da Kendall, in particolare sull'esistenza e l'eventuale posizione del secondo doppio legame: «Il secondo doppio legame è estremamente improbabile, e in quella posizione sicuramente falso (*sicher falsch*)».⁴¹

Malgrado l'arricchimento continuo della collezione di sostanze corticosurrenali Reichstein rimase in attesa di scoprire sostanze attive (*a là* Everse e de Frémery) fino alla fine di novembre del 1936, quando, in una comunicazione firmata anche da Laqueur e de Frémery, venne annunciata all'Accademia Reale delle Scienze in Amsterdam la scoperta di una nuova sostanza, il corticosterone, molto attivo nel test di sopravvivenza del cane e — per fortuna degli autori — anche nel test preliminare di Frémery.⁴² La ricerca su questo composto diventa imme-

³⁸ T. REICHSTEIN, «Über Bestandteile der Nebennierenrinde. VI. Trennungsmethoden, sowie Isolierung der Substanzen F.a. H und J», *Helv. Chim. Acta*, 19, 1107-1126 (1936).

³⁹ Gli stessi tecnici della Organon si sono chiesti più tardi se il test Everse-de Frémery, impiegato solo nel laboratorio olandese, 'misurasse' effettivamente qualcosa. Anche Ingle fu l'unico ad usare il suo test. Per una critica acuta di tutta la situazione conoscitiva trattata in questa mia comunicazione si veda: S.A. SZPILFOGEL, «Adrenocortical steroids and their synthetic analogues», in: M.J. Parnham, J. Bruinvels (a cura di), *Discoveries in Pharmacology, vol. 2: Haemodynamics, Hormones & Inflammation*, Amsterdam, Elsevier, 1984, pp. 253-284.

⁴⁰ Uno dei vantaggi del test Everse-de Frémery era l'uso di dosi estremamente ridotte delle sostanze da valutare.

⁴¹ Rif. 38, p. 1114.

⁴² Rif. 18, p. 554.

diatamente frenetica anche alla Mayo Clinic, e presto giunge dal gruppo di Kendall una rivendicazione di priorità, facilmente respinta da Reichstein nell'ampio lavoro si caratterizza la struttura e le proprietà chimico-fisiche della nuova sostanza — la più attiva nei test di sopravvivenza fra quelle ricavate fino ad allora dalla corteccia surrenalica.⁴³ Intanto, in collaborazione con Marguerite Steiger, il chimico svizzero aveva iniziato una serie di ricerche sulle possibili vie sintetiche per giungere ai composti corticosurrenali in modo più economico e con quantità — eventualmente — utilizzabili a scopo terapeutico.⁴⁴ Il primo lavoro per noi importante pubblicato con la nuova collaboratrice fu inviato all'*Helvetica Chimica Acta* ai primi di giugno del 1937; esso era dedicato interamente al problema della natura chimica e della posizione strutturale dell'«ultimo atomo di ossigeno», come recita in modo un po' troppo criptico il titolo dell'articolo.⁴⁵ È opportuno soffermarci su questo contributo, anche perché è esemplare dal punto di vista dell'epistemologia dei chimici. In precedenza Reichstein aveva lavorato eseguendo demolizione ossidativa della catena laterale della Sostanza A, e aveva ottenuto un composto identificato come «monochetone con punto di fusione 236°»; una successiva ossidazione più energica aveva portato al 'dichetone', lasciando nell'ombra la natura del terzo atomo di ossigeno, la cui presenza era accertata mediante la composizione. Ora Steiger e Reichstein studiano il 'monochetone' con maggiore attenzione: un'acetilazione leggera (*leicht*) blocca un ossidrile e permette un'ossidazione in *due* tempi, mentre una forte acetilazione blocca *due* ossidrili, quello nella nota posizione 3 ed uno ancora in posizione incognita. Così dal monochetone, in effetti, si giunge ad un trichetone. Questa nuova deduzione strutturale fornisce ai due chimici uno spunto formidabile, in quanto il trichetone non dà alcuna reazione degli alfa o dei beta dichetoni, e, poiché la posizione di due gruppi CO è accertata (in 3 e 17), il fatto che le posizioni alfa e beta rispetto ad essi non siano occupate permette di eliminare parecchie possibilità, mentre altre sono scartate per via dell'accertata reattività dei rispettivi gruppi ossidrilici o chetonici; infine in un caso si sarebbe dovuto ottenere un composto già noto. L'unica posizione rimasta è quella in C₁₁, posizione a cui Steiger e

⁴³ T. REICHSTEIN, «Über Bestandteile der Nebennieren-Rinde. X. Zur Kenntnis des Cortico-sterons», *Helv. Chim. Acta*, 20, 953-969 (1937); la discussione dei contributi della Mayo Clinic è alle pp. 958-960. Il Composto B di Kendall corrisponde effettivamente al corticosterone, ma al momento del primo isolamento era stato descritto con un punto di fusione inferiore di ben 40° a quello ottenuto dal chimico svizzero, così come assai diversi erano stati i dati analitici e di potere rotatorio. Reichstein sottolinea che Kendall aveva proposto la posizione del 'terzo ossigeno' in C₁₁ nell'aprile 1937, ma senza nessuna ulteriore prova sperimentale.

⁴⁴ Non deve stupire che Reichstein si inoltrasse su questa strada *prima* di che fosse certa la struttura dei composti corticosurrenali. Egli, infatti, era riuscito a sintetizzare la vitamina C (e a brevettare la sintesi) prima che la struttura fosse definitivamente accertata.

⁴⁵ MARGUERITE STEIGER, T. REICHSTEIN, «Über Bestandteile der Nebennieren-Rinde. IX. (Die Funktion des letzten Sauerstoffatoms)», *Helv. Chim. Acta*, 20, 817-827 (1937).

Reichstein assegnano il «terzo atomo di ossigeno» e che diventerà famosa fra i chimici organici per la sua scarsa reattività.⁴⁶

In realtà la ricerca di Steiger e Reichstein aveva già colto un successo ancor maggiore, a livello scientifico e pratico, con la sintesi del desossicortico-sterone. Annunciata fin dall'aprile 1937, su di essa venne subito richiesta «una serie di brevetti», per poi essere descritta ampiamente in una nota inviata il 1° agosto 1937 all'*Helvetica Chimica Acta*.⁴⁷ Dimostratosi estremamente attivo, per molti anni a venire questo composto fu l'unico ad essere messo in commercio come medicinale (specie nella forma acetilata, DOCA), e ad essere quindi disponibile in quantità anche per la ricerca. Quando il desossicorticosterone è sintetizzato Reichstein ha ormai a disposizione una piccola famiglia di composti fisiologicamente attivi: il corticosterone, due suoi derivati (il desossi — e il deidro —), e due sostanze denominate M ed F.a. (quest'ultime corrispondenti ai Composti F ed E di Kendall, ora noti come cortisolo e cortisone). Su questo insieme di cinque sostanze le deduzioni che riguardano il rapporto fra struttura molecolare sono essenzialmente due. La prima, dovuta al gruppo della Mayo Clinic è che la presenza del doppio legame fra C₄ e C₅ è una condizione necessaria per l'attività fisiologica; la seconda deduzione invece riguarda l'ossigeno in C₁₁. Il fatto che il composto più attivo, il desossicorticosterone, non ha un atomo di ossigeno in C₁₁ dimostra che quest'aspetto strutturale non è significativo per quanto riguarda il criterio cruciale di mantenere in vita gli animali adenoprivi.⁴⁸

Oramai la caccia ai composti cristallizzabili dagli estratti corticosurrenali stava per dare i suoi ultimi frutti significativi. Nell'agosto 1938 Reichstein e J. von Euw caratterizzavano ancora nuovi composti, e la sostanza denominata Q risultava essere identica al desossicorticosterone, già sintetizzato come *composto modello* un anno prima! Nello stesso lavoro i due ricercatori rintracciarono l'ultimo dei composti attivi, ma la sua identificazione come nuova sostanza (la S della serie) richiese ancora qualche verifica.⁴⁹ Alla fine del 1939, in gran parte per merito del laboratorio di Reichstein, tutti e sei i composti attivi presenti negli estratti corticosurrenali erano stati isolati e caratterizzati a livello chimico. Due problemi rimanevano aperti. Il primo, essenzialmente chimico riguardava la

⁴⁶ *Ib.*, p. 820.

⁴⁷ M. STEIGER, T. REICHSTEIN, «Desoxy-cortico-steron (21-Oxy-progesteron) aus 5-3-Oxy-ätio-cholen-säure», *Helv. Chim. Acta*, 20, 1164-1165 (1937).

⁴⁸ *Ib.*, p. 1170.

⁴⁹ T. REICHSTEIN, J. v. EUW, «Über Bestandteile der Nebennierenrinde. XX. Isolierung der Substanzen Q (Desoxy-corticosterin) und R sowie weitere Stoffe», *Helv. Chim. Acta*, 21, 1197-1210 (1938); cfr. L.F. FIESER, M. FIESER, *Natural Products Related to Phenanthrene*, New York: Reinhold, 1949, p. 424. Il lavoro in collaborazione con von Euw arrivò in redazione il 23 agosto, la nota con la caratterizzazione della Sostanza S vi giunse il 28 settembre: T. REICHSTEIN, «Über Bestandteile der Nebennierenrinde. XXI. Die Konstitution der Substanzen R und S», *Helv. Chim. Acta*, 21, 1490-1497 (1938).

frazione amorfa che dopo innumerevoli tentativi di separazione non aveva mai dato composti ben definiti, pur essendo estremamente attiva a livello fisiologico. Il secondo problema era posto dalla mancanza di accordo fra i fisiologi e fra i biochimici sull'effettiva funzione metabolica dei corticosurrenali; è evidente che questa incertezza bloccava qualsiasi serio tentativo di definire la correlazione struttura/attività.

Le difficoltà della ricerca fisiologica non erano state certo minori di quelle incontrate dai biochimici più direttamente interessati all'isolamento e alla caratterizzazione della cortina. Per comprendere meglio la questione è opportuno ricordare che la corteccia surrenalica è l'organo omeostatico per eccellenza; la sua attività si ripercuote su numerose altre funzioni dell'organismo, dal bilancio elettrolitico Na/K, regolato dai reni, al complesso catabolismo delle proteine, e il suo secreto è connesso con quello di altre ghiandole endocrine, in primo luogo il lobo anteriore dell'ipofisi. Ad un certo punto della nostra storia i glucocorticoidi occuperanno il centro dell'attenzione dei biochimici; per comprendere meglio le loro incertezze mi sembra opportuno ricordare che la regolazione e l'azione dei glucocorticoidi può essere così schematizzata: lo stress e il ritmo circadiano influenzano l'ipotalamo che rilasciando un ormone specifico (il CRH) agisce sull'adenoipofisi; questa a sua volta invia un ormone (l'ACTH) alle surreni che secernono i glucocorticoidi. Questi steroidi determinano un aumento del glicogeno epatico e della concentrazione ematica del glucosio, fenomeni dovuti alla perdita di aminoacidi dai muscoli, alla mobilitazione di acidi grassi liberi nelle cellule adipose e, infine all'intervento del fegato (deaminazione di aminoacidi e gluconeogenesi). Il quadro è completato da un feedback negativo delle surreni sull'adenoipofisi e sull'ipotalamo.⁵⁰

A Cold Spring Harbor, nell'estate 1937 si tenne un Simposio di Biologia Quantitativa i cui atti sono un documento privilegiato per comprendere l'ampiezza del dibattito fra biochimici e endocrinologi. Il Laboratorio Biologico di Cold Spring Harbor organizzava annualmente dei seminari dedicati ai problemi più attuali delle discipline biologiche di confine, e il Simposio del 1937 fu appunto dedicato alle ricerche sulle ghiandole endocrine. Già seguendo le ricerche di Kendall abbiamo visto le numerose occasioni di incontro che la comunità biochimica offriva ai suoi membri, e non c'è dubbio che il lavoro degli endocrinologi statunitensi fosse favorito da una rete di rapporti professionali estesa ed efficiente. Un esempio che coglie il meglio delle possibilità offerte da questa rete è dato dai ringraziamenti che Robert Gaunt, del Dipartimento di Biologia, New York University, pone all'inizio del suo contributo dedicato alla «relazione

⁵⁰ R. ECKERT, *Fisiologia animale*, Bologna: Zanichelli, 1985, p. 387.

adreno-pituitaria». L'elenco comprende molte delle maggiori imprese farmaceutiche americane che avevano mandato ormoni cristallizzati ed estratti ormonali al laboratorio di Gaunt: la Parke, Davis & Co., la E.R. Squibb and Sons, la Upjohn Co., la Schering Corporation; a questi 'fornitori' industriali va ancora aggiunto J.B. Collip, del dipartimento di biochimica della McGill University.⁵¹

Al Simposio del 1937, oltre a quella di Gaunt, furono presentate almeno altre otto comunicazioni riguardanti direttamente l'attività fisiologica della corteccia surrenalica. Per quanto riguarda il punto centrale della discussione, e cioè la funzione fisiologica vitale svolta dalle corteccia surrenalica, il quadro complessivo emerso dalla riunione di Cold Spring Harbor era estremamente vario, allo stesso tempo deludente ed eccitante. Infatti il disaccordo più totale regnava fra tutti i biochimici e i fisiologi intervenuti: ciascuno di essi dava una sua propria versione dell'attività corticosurrenalica, spesso negando ogni possibile compromesso con le tesi altrui. W.W. Swingle, del Dipartimento di Biologia di Princeton, sviluppa ad esempio un'amplissima argomentazione sperimentale a favore della tesi che «L'ormone corticale è interessato al mantenimento della distribuzione dell'acqua e degli elettroliti fra i due grandi contenitori di fluidi del corpo — i compartimenti intra- ed extra-cellulari».⁵² Una posizione contigua è espressa da G.H. Harrop, dei laboratori di ricerca della Squibb: «L'azione dell'ormone corticale nel causare spostamenti nei fluidi e negli elettroliti fra i vari compartimenti del corpo non è ancora chiara», tuttavia «la regolazione dell'escrezione del sodio è un'importante funzione della corteccia surrenalica», mentre «l'effetto sul metabolismo del potassio della rimozione dell'influenza della corteccia surrenalica non è affatto così marcata nell'uomo come lo è nel cane»; così tutta l'attenzione dell'autore è concentrata «sugli effetti dell'ormone corticale sul metabolismo del sodio».⁵³ Il giudizio negativo a proposito del potassio è dato in contrasto con la proposta di ricercatori della Mayo Clinic (fra cui Kendall) di una dieta a basso contenuto di potassio per i malati del morbo di Addison. E infatti nella comunicazione di Kendall troviamo non solo un esplicito riferimento alle ricerche sulle diete citate da Harrop, ma anche un'ampia trattazione del significato dell'accentuata presenza del potassio negli 'Addisoniani'; l'esito di questa presenza è essenzialmente tossico. Dato che il morbo di Addison si può con-

⁵¹ R. GAUNT, «The Adrenal-pituitary Relationship», *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 5, pp. 395-404 (1937).

⁵² W.W. SWINGLE, «Experimental Studies on the Function of the Adrenal Cortex», *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 5, pp. 327-343 (1937); cit. alla p. 340. Abbiamo già incontrato Swingle come autore di un test di sopravvivenza dei cani adrenoprivi; cfr. rif. 21.

⁵³ G.A. HARROP, «The Influence of the Adrenal Cortical Hormone and Related Compounds upon the Electrolyte and Water Balance», *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 5, pp. 375-380 (1937); cit. alla p. 375.

trollare con diete ad alto contenuto di sodio e basso contenuto di potassio, la conclusione di Kendall è netta: «L'influenza della cortina sul metabolismo animale può essere brevemente riassunta nell'affermazione che la cortina protegge l'animale da rapide fluttuazioni nella concentrazione degli ioni sodio, cloruro e potassio».⁵⁴ Ancora più 'concentrato' sulla funzione tossica del potassio è R.L. Zwemer, del Dipartimento di Anatomia della Columbia University. Egli prende in considerazione anche i disturbi al metabolismo degli zuccheri negli animali adenoprivi, ma solo per relativizzare la loro importanza: «ulteriore lavoro sperimentale ha mostrato tuttavia che né zucchero scarso né sodio scarso sono di primario significato critico, dal momento che livelli egualmente bassi possono essere ottenuti con altri mezzi, senza riprodurre la sindrome dell'insufficienza surrenalica».⁵⁵ Piuttosto, scrive Zwemer: «fra tutti i disturbi dell'insufficienza surrenalica, la regolazione inadeguata del potassio è la più critica per il benessere del corpo nel suo insieme».⁵⁶

Se Swingle, Harrop, Kendall e Zwemer puntano tutto sull'equilibrio fisiologico degli elettroliti, una posizione diversa, più complessa e più perplessa compare in altri autori. In particolare assumono questo atteggiamento due veterani della ricerca sulla cortina: Frank Hartman (Dipartimento di Fisiologia, Ohio University), che nel 1928 ne aveva proposto il nome, e Arthur Grollman (Dipartimento di Farmacologia, Johns Hopkins Medical School), che fin dal 1933 aveva affermato di averla isolata.⁵⁷ La relazione di Hartman inizia con una affermazione rilevante: al momento dei primi estratti corticosurrenalici attivi «si assumeva che la cortina fosse il solo ormone prodotto. Noi ora abbiamo l'evidenza che sono formati diversi ormoni (*several hormones*), ma è troppo presto per dire se uno o più ormoni sono vitali».⁵⁸ Hartman discute in successione le relazioni della cortina con gli elettroliti e con lo spostamento (*shift*) dei fluidi corporei, con il sistema nervoso, con il metabolismo (stress, carboidrati, consumo dell'ossigeno), e con la funzione di alcune vitamine. Le sue conclusioni riprendono l'osservazione iniziale, con una posizione che evidenzia le difficoltà incontrate nell'assegnare una pluralità di funzioni fisiologiche ad una singola sostanza chimica ben definita: «C'è un ormone vitale, la cortina. Questo mantiene il bilan-

⁵⁴ E.C. KENDALL, «A Chemical and Physiological Investigation of the Suprarenal Cortex», *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 5, pp. 299-312 (1937); cit. alla p. 307.

⁵⁵ R.L. ZWEMER, «Electrolyte and Sugar Determinations as Indicators of Adrenal Influence on Normal Cell Activity», *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 5, pp. 323-326 (1937), cit. alla p. 324. Nel contesto di questa mia nota non posso soffermarmi sulle difficoltà epistemologiche che trapelano dall'affermazione di Zwemer.

⁵⁶ *Ib.*, p. 324.

⁵⁷ A. GROLLMAN, W.M. FIROR, «Studies on the Adrenal. III. The Preparation of an Active Extract of the Hormone of the Adrenal Cortex», *J. Biol. Chem.*, 100, 429-439 (1933).

⁵⁸ F.A. HARTMAN, «The Hormones of the Adrenal Cortex», *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 5, pp. 289-298 (1937), p. 289; si noti la novità e l'incertezza di questa affermazione.

cio elettrolitico e sembra anche essere rischiesto dal sistema nervoso. [...] La corteccia gioca un ruolo nel metabolismo dei carboidrati e dei grassi. Sebbene in questo la cortina sembri essere necessaria, c'è l'indicazione di un fattore addizionale», ed infine: «Il numero degli ormoni nella corteccia non può essere assestato (*settled*) definitivamente finché ciascuno [di essi] non sia isolato e la sua azione fisiologica determinata».⁵⁹

Il contributo di Grollman inizia con un'analisi critica dei test fisiologici, concludendo — in modo non sorprendente — che il saggio da lui adottato su giovani ratti «dà risultati consistenti e affidabili». Il senso della critica risale ad un atteggiamento olistico. In particolare Grollman attacca subito i saggi con cui vengono condotti «gli studi chimici dei prodotti cristallini isolati dagli estratti». Questi test si basano su una singola manifestazione dell'insufficienza surrenalica, come la capacità di lavoro di un muscolo o la concentrazione nel sangue di azoto non proteico: «Tuttavia, gli animali reagiscono in una tale molteplicità di modi ad una insufficienza indotta da adrenalectomia che può sempre essere messo in dubbio se una qualsiasi specifica manifestazione possa essere presa come criterio di funzione surrenalica».⁶⁰ Il riferimento alla «capacità di lavoro di un muscolo» accomuna nella critica sia il gruppo di Kendall sia quello di Reichstein, anche se, come diventerà chiaro negli anni successivi, i due test 'misuravano' prestazioni diverse dell'organismo. In ogni caso, dopo aver ripresentato il 'suo' ormone, ora ben cristallizzato, Grollman diventa più pesante quando confronta i propri risultati con quelle *equipes* che fino ad allora avevano dominato il settore biochimico della ricerca. In un'analisi non priva di contraddizioni interne il farmacologo della prestigiosa Johns Hopkins non promuove nessuno dei tre gruppi in questione, e in rapida successione confuta i risultati di Kendall, Wintersteiner e Pfiffner, e Reichstein.⁶¹ Complessivamente il discorso di Grollman accetta molti degli effetti metabolici dei composti corticosurrenali riscontrati dagli altri autori, ma la sua tesi è ben riassunta nel titolo di una sezione dell'articolo: «la natura unitaria dell'ormone corticale surrenalico», sezione in cui si ribadisce: «Altri pretendono di aver dimostrato la necessità di assumere l'elaborazione di diversi ormoni (*several hormones*) da parte della corteccia. I nostri esperimenti ci hanno portato a concludere che la corteccia surrenalica, così come esiste normalmente negli adulti, elabora solo un ormone che basta a mantenere tutte le normali funzioni dell'organismo».⁶²

Al 'polo' opposto rispetto ai contributi di chi sosteneva il mantenimento del-

⁵⁹ *Ib.*, p. 294.

⁶⁰ A. GROLLMAN, «Physiological and Chemical Studies on the Adrenal Cortical Hormone», *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 5, pp. 313-322 (1937), p. 313.

⁶¹ Nel caso di Kendall, stranamente, Grollman cita una 'vecchia' formula per il Composto E, e precisamente $C_{21}H_{30}O_5$; cfr. *ib.*, p. 317.

⁶² *Ib.*, p. 318.

l'equilibrio elettrolitico come funzione vitale della corteccia surrenalica si collocarono due relazioni, quella di Long e quella di Britton e Silvette. All'incontro di Cold Spring Harbor C.N.H. Long rappresentava il laboratorio di chimica fisiologica della School of Medicine di Yale; nella sua comunicazione mette in relazione l'attività del lobo anteriore della ghiandola pituitaria con quella della corteccia surrenalica. Noi ora sappiamo che si tratta di una questione cruciale, così (dal nostro tempo) vediamo che Long è molto vicino ad una descrizione della retroazione della corteccia surrenalica: «Ora come ora è impossibile decidere se la relazione fra la pituitaria anteriore e la corteccia surrenalica, così come si evidenzia nei loro effetti sul metabolismo dei carboidrati e dei grassi, sia dovuta alla liberazione di qualche ormone dalla corteccia sotto l'azione stimolante della pituitaria anteriore, o se la presenza di una quantità adeguata di un ormone corticale è necessaria per far sì che il fattore della pituitaria anteriore produca alterazioni nel metabolismo dei tessuti». ⁶³ È nel contesto di questa complicata fenomenologia che Long prende chiaramente posizione in favore dell'osservazione di Britton — confermata da proprie ricerche — che «in animali adenoprivi si possono osservare nette diminuzioni nei livelli dello zucchero nel sangue e dei depositi di glicogeno del fegato e dei muscoli», concludendo che «la corteccia surrenalica deve esercitare, almeno in alcune circostanze, un notevole effetto sul metabolismo dei carboidrati e possibilmente dei grassi e delle proteine». ⁶⁴

Nell'incontro di Cold Spring Harbor all'ampia relazione di Long seguì quella stringatissima di S.W. Britton e H. Silvette, del Laboratorio fisiologico della School of Medicine, Università della Virginia. Fin dal 1930 Britton aveva sostenuto che vi erano molte indicazioni che la corteccia fosse «interessata nel deposito e nell'utilizzazione dei carboidrati». Gli anni trascorsi da allora hanno solo confermato le prime ricerche, in particolare e in tempi recenti attraverso l'estensione delle osservazioni anche ad animali insoliti nella pratica di laboratorio come la marmotta e l'opossum; di qui la conclusione netta: «Un considerevole insieme di evidenze indica quindi il profondo coinvolgimento della corteccia surrenalica [...] nella regolazione del metabolismo dei carboidrati nel corpo». ⁶⁵

Risulta chiaro anche da una lettura affrettata che il disaccordo fra i ricercatori era quasi completo, con notevoli divisioni anche all'interno della 'fazione' più consistente, quella che accentrava l'attenzione sul metabolismo degli elettroliti e che comprendeva un Kendall privo, come suo solito, di qualsiasi dubbio. Prima di seguire le vicende che portarono all'abbandono del concetto stesso di

⁶³ C.N.H. LONG, «Studies on the "Diabetogenic" Action of the Anterior Pituitary», *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 5, pp. 344-356 (1937), cit. alla p. 349.

⁶⁴ *Ib.*, p. 346.

⁶⁵ S.W. BRITTON, H. SILVETTE, «Adrenal Cortex and Carbohydrate Metabolism», *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.*, 5, pp. 357-361 (1937), cit. alla p. 359; tutte le indicazioni delle pagine dei contributi presentati a questo simposio includono la discussione. Il testo della nota di Britton e Silvette occupa meno di due pagine e mezza.

'cortina' va ancora notato che, fra i molti interventi citati, quello di Kendall fu l'unico a tentare una correlazione fra la struttura dei composti corteccia surrenalica e l'attività fisiologica. Da questo punto di vista, per noi fondamentale, emergono nella relazione di Kendall due fatti significativi. Il primo fatto è che il biochimico della Mayo Clinic non ha alcun sospetto sulla funzione fisiologica del (poi) famoso ossigeno su C_{11} , in quanto sono correlati con l'attività corticosurrenalica principalmente il doppio legame nell'anello A e in subordine la catena laterale.⁶⁶ Il secondo fatto è di tutt'altra natura, e rientra nell' 'egotismo' scientifico di Kendall che nella dettagliata descrizione delle ricerche sulla struttura dei composti corticosurrenalici riesce a parlare soltanto di se stesso e a ignorare completamente il contributo di Reichstein. Il ricercatore svizzero è citato marginalmente un paio di volte, a proposito dell'attività fisiologica dei composti e della possibilità di una loro sintesi di laboratorio; sulle sue ricerche strutturali nulla viene detto.

L'eclissi della 'cortina' fu il risultato di un processo conoscitivo lungo, contorto e collettivo. Infatti si dovette abbandonare il concetto stesso di cortina e di una *singola* funzione vitale collegata a questo ormone (virtuale) e alla corteccia surrenalica (reale). Per avere almeno un'idea di questo percorso possiamo seguire la letteratura pertinente apparsa su *Endocrinology*, il giornale che ospitò gran parte del dibattito, vivissimo, fra i ricercatori americani.

Nel giugno 1938 Kendall tenne una conferenza alla Association for the Study of Internal Secretions sul tema generale dell'influenza delle ghiandole a secrezione interna sul metabolismo. Ad un anno di distanza può citare puntualmente gli atti dell'incontro di Cold Spring Harbor; dal confronto con gli altri autori egli deriva questa conclusione: «Il cosiddetto ormone del sale e dell'acqua e il principio attivo che causa la formazione del glicogeno [...] sono identici». Ancora più chiaramente Kendall stabilisce che «NaCl e cortina influenzano i medesimi processi metabolici».⁶⁷ Il testo venne pubblicato nel giugno dell'anno successivo su *Endocrinology*. Intanto nell'aprile 1939, meno di due anni dopo il Simposio di Cold Spring Harbor, l'American Chemical Society, ovvero la sua Division of Medical Chemistry, aveva organizzato un incontro sulle ghiandole endocrine. Fra le sette comunicazioni che furono pubblicate ancora su *Endocrinology*, nel fascicolo di settembre, due riguardano il nostro tema e dimostrano come si fosse ancora in una posizione di stallo: Mason, il principale collaboratore di Kendall, discute a lungo le strutture dei composti corticosurrenalici, ma non riesce a trarre alcuna conclusione nuova in funzione dell'attività fisiologica;⁶⁸ Grollman spende

⁶⁶ Rif. 54, pp. 309-310.

⁶⁷ E.C. KENDALL, «The Influence of Some of the Ductless Glands on Metabolic Processes», *Endocrinology*, 24, 799-805 (1939); cit. alle pp. 804-805.

⁶⁸ H.L. MASON, «Chemistry of the Adrenal Cortical Hormone», *Endocrinology*, 25, 405-412 (1939).

l'intero intervento ad esprimere dubbi, a partire da quello più radicale: che sia mai stato isolato «il vero ormone» della corteccia surrenalica.⁶⁹

La svolta verso una comprensione più differenziata e profonda dell'attività dei singoli ormoni corticosurrenalici avvenne nel 1940. In un monumentale saggio, pubblicato in febbraio, Long e collaboratori discutono il rapporto della corteccia surrenalica con il metabolismo dei carboidrati. Essi affermano che ogni teoria della funzione corticosurrenalica deve tenere in considerazione sia il bilancio elettrolitico, sia il metabolismo dei carboidrati; gli esperimenti rimuovono la necessità di assumere fattori separati per le due funzioni essenziali; «certi steroidi della corteccia surrenalica che sono in grado di mantenere in vita con un bilancio elettrolitico normale animali adenoprivi influenzano anche il metabolismo dei carboidrati di animali parzialmente privati del pancreas. [...] non tutti gli steroidi corticali capaci di mantenere in vita animali adenoprivi sono di eguale potenza nel loro effetto sul metabolismo dei carboidrati».⁷⁰ In agosto è il turno di Ingle, ora alla University of Pennsylvania, di confrontare in modo netto il desossicorticosterone di Reichstein con il Composto E di Kendall.⁷¹ Nella nota il significato fisiologico del test Everse-de Fémery («una procedura intensiva (*acute*)») viene chiaramente distinto dal test dell'autore, inteso a creare forme severe e prolungate di stress. L'attività sul metabolismo dei carboidrati del Composto E è *quantitativamente* più marcata di quella del desossicorticosterone, per cui Ingle conclude affermando la possibilità che «la corteccia surrenalica secerni due o più ormoni e che non vi sia nessuna attività predominante (*prepotent*) della ghiandola»: «è improbabile che ciascuna delle molte funzioni ora studiate possa avere associato un ormone esclusivo per quella funzione». Ingle termina invitando ad «una penetrante analisi del metabolismo».⁷² Ormai l'ostacolo epistemologico della teoria dominante (*una ghiandola — un ormone*) era rimosso, e su questa via si inoltrarono anche (quasi) tutti i ricercatori impegnati sulle corteccia surrenalica.

Nel luglio 1942 Reichstein e C.W. Shoppee chiudevano ed inviavano alle stampe un'ampia rassegna sugli «Ormoni della corteccia surrenalica». Il plurale del titolo era chiaramente programmatico; gli autori elaborano tutti i dati derivati dai test fisiologici sui sei composti attivi e sulla 'frazione amorfa', li correlano in funzione del contenuto di ossigeno e pubblicano una tavola il cui stile

⁶⁹ A. GROLLMAN, «The Rôle of the Adrenal Glands in the Animal Economy», *Endocrinology*, 25, 413-416 (1939).

⁷⁰ C.N.H. LONG, B. KATZIN, E.G. FRY, «The Adrenal Cortex and Carbohydrate Metabolism», *Endocrinology*, 26, 309-344 (1940), cit. alla p. 333.

⁷¹ Come nei casi già citati di altri autori Ingle si pone al centro di una rete di rapporti: con la Mayo Clinic (ringrazia Mason e Kendall, in quest'ordine); con Reichstein, ora a Basilea; con la CIBA, NJ; con la Roche-Organon, NJ.

⁷² D.J. INGLE, «The Effect of Two Cortin-like Compounds upon the Body Weight and Work Performance of Adrenalectomized Rats», *Endocrinology*, 27, 297-304 (1940).

rimarrà invariato fino ai nostri giorni. Da essa risulta nettamente la partizione fra mineralocorticoidi e glucocorticoidi (i nomi verranno dopo), e nel testo viene sottolineata la correlazione fra il metabolismo dei carboidrati e «la presenza di un atomo di ossigeno in C₁₁». Il problema della 'frazione amorfa', attivissima sul bilancio elettrolitico, rimane aperto, e gli autori sottolineano che fino a quando anche questo aspetto non sarà risolto sarà «una questione di scelta personale» il riferirsi a «l'ormone» o a «parecchi ormoni corticosurrenalici». La prima scelta è quella ancora fatta da Hartman e Grollman, «la seconda è quella di Kendall e degli autori».⁷³ Con questo insolito accordo fra i due protagonisti, Reichstein e Kendall, si conclude la vicenda scientifica della cortina, anche se il nome, con un riferimento ontologico sempre più ambiguo, rimarrà ancora in uso per molto tempo.

L'isolamento e la caratterizzazione dell'aldosterone, l'ormone contenuto nella frazione amorfa, furono portati a termine solo dopo che due ricercatori inglesi ebbero trovato una nuova chiave sperimentale per aprire l'accesso alla misteriosa 'frazione'. James Tait e Sylvia Simpson lavoravano al Middlesex Hospital di Londra, e pur non avendo particolari fondi di ricerca avevano accesso a isotopi radioattivi di sodio e potassio. Decisero così di studiare l'effetto di frazioni di un estratto corticosurrenalico commerciale sul bilancio elettrolitico di ratti adenoprivi. Il rapporto fra gli isotopi radioattivi nelle urine dei ratti fornì un metodo di controllo assai sensibile, mentre l'uso della cromatografia su carta — introdotta da poco — permise l'isolamento dagli estratti della frazione più attiva, senza dover intervenire chimicamente. Iniziata nel 1948, dopo tre anni la ricerca dei due scienziati inglesi giunse fino ad una forte concentrazione dell'«elettrocortina», l'ormone responsabile della ritenzione del sodio e dell'acqua.⁷⁴ A questo punto gli interessi di Tait e Simpson si incontrarono con quelli di Reichstein (e della CIBA); il 23 luglio 1953 inglesi e svizzeri poterono annunciare l'avvenuta cristallizzazione del nuovo ormone,⁷⁵ e il 15 febbraio 1954 all'ormone, ribattezzato aldosterone, venne assegnata la struttura molecolare.⁷⁶ Queste due smilze note non potevano certamente soddisfare il desiderio di completezza degli scien-

⁷³ T. REICHSTEIN, C.W. SHOPPEE, «The Hormones of the Adrenal Cortex», *Vitamines and Hormones*, 1, 345-413 (1943).

⁷⁴ W. SNEADER, *Drug Discovery: the Evolution of Modern Medicines*, Chichester: Wiley, 1985, p. 223.

⁷⁵ S.A. SIMPSON, J.F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, T. REICHSTEIN, «Isolierung eines neuen kristallisierten Hormons aus Nebennieren mit besonders hoher Wirksamkeit auf den Mineralstoffwechsel», *Experientia*, 9, 333-335 (1953). La nota fu pubblicata in novembre.

⁷⁶ S.A. SIMPSON, J.F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, O. SCHINDLER, T. REICHSTEIN, «Konstitution des Aldosterons, des neuen Mineralcorticoids», *Experientia*, 10, 132-133 (1954). La nota fu pubblicata a marzo.

ziati impegnati nell'impresa, anche perché erano state impiegate le tecniche di laboratorio allora più all'avanguardia dalla cromatografia preparativa alla spettroscopia infrarossa, così alla fine di aprile due grossi articoli furono inviati — ancora una volta — all'*Helvetica Chimica Acta*; essi costituivano la 91^a e 92^a *Mitteilung* della serie inaugurata da Reichstein diciotto anni prima.⁷⁷

Qualche conclusione può essere tratta anche da un racconto incompleto⁷⁸ come quello qui presentato. Se consideriamo in primo luogo l'aspetto critico dei test fisiologici, è evidente quanto negativamente abbia pesato sull'intera vicenda la competizione esasperata fra i gruppi di ricerca. Solo dopo anni di aspri confronti si cominciò ad accettare che la diversa verità altrui era compatibile con la propria. Non fu fatto nessun tentativo di collaborazione, anche fra laboratori accademici, per confrontare l'efficacia e il *senso degli esperimenti sugli animali*. Se poi spostiamo l'attenzione sui contributi, più strettamente biochimici, di Reichstein, di Kendall, e dei loro collaboratori è innegabile il vantaggio per la Mayo Clinic rappresentato dall'aver 'in casa' un ricercatore come Ingle. Sul rapporto fra struttura e attività il contributo degli americani è probabilmente maggiore di quello degli svizzeri e olandesi, tuttavia Reichstein ha dominato la ricerca per quanto riguarda le procedure di isolamento e di determinazione delle strutture molecolari. Se poi confrontiamo gli *stili di ricerca personali* di Reichstein e di Kendall otteniamo un risultato interessante: lo stile dell'americano è concitato, inaccurato e persino un po' avventato; quello di Reichstein è uno stile potente, colto, cauto e fin troppo prudente nelle conclusioni teoriche. Sapendo che entrambi furono premiati a Stoccolma si potrebbe dire che *il Nobel non è una questione di stile*.

⁷⁷ S.A. SIMPSON, J.F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J.V. EUW, O. SCHINDLER, T. REICHSTEIN, «Aldostern. Isolierung und Eigenschaften. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe. 91. Mitteilung», *Helv. Chim. Acta*, 37, 1163-1200 (1954); S.A. SIMPSON, J.F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. v. EUW, O. SCHINDLER, T. REICHSTEIN, «Die Konstitution des Aldosterons. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe. 92. Mitteilung», *Helv. Chim. Acta*, 37, 1200-1223 (1954).

⁷⁸ Questioni di spazio non mi hanno permesso di seguire più in dettaglio i programmi di ricerca dei due protagonisti, Reichstein e Kendall, e nemmeno ho considerato il contributo di altri gruppi come quello di G.F. Cartland e M.H. Kuizenga, dei Laboratori di ricerca della Upjohn. In sede di rimpianti mi spiace non aver potuto dare il dovuto risalto alle tecniche sperimentali. Ad es., nel 1938 Reichstein e von Euw descrivevano dettagliatamente le loro procedure di separazione in una sezione intitolata *Chromatographie*; v. rif. 49, pp. 1202-1204.