



Laktony 10. Hydroksy- i acetoksy-laktony terpenoidowe – syntetyczne deterenty pokarmowe owadów

Teresa Olejniczak¹, Małgorzata Grabarczyk¹, Jan Nawrot²,
Czesław Wawrzeńczyk¹

¹Katedra Chemii, Akademia Rolnicza, Wrocław

²Instytut Ochrony Roślin, Poznań

Lactones 10. Hydroxy and acetoxy terpenoid lactones – synthetic insect feeding deterrents

Summary

Several terpenoid δ -hydroxy- γ -lactones, γ -hydroxy- δ -lactones and their acetates were tested for feeding deterrent activity on three storage pest insects, the granary weevil beetle (*Sitophilus granarius* L.), the confused flour beetle (*Tribolium confusum* Duv.) and the khapra beetle (*Trogoderma granarium* Ev.). Homoterpenoid *trans* δ -hydroxy- γ -lactone **12** showed high, comparable with azadirachtin, activity against the adults of *Tribolium confusum*. Its *cis* isomer (**17**) was also very strong antifeedant but towards the larvae of *Trogoderma granarium*. The results indicate that the feeding deterrent activity depends on the shape of the molecule of the tested compounds. The effect of the configuration of chiral centres present in the molecule as well as geometry of substituents at the lactone ring on the deterreny was observed. The antifeedant activity also depends on the developmental stage of the insects.

Adres do korespondencji

Teresa Olejniczak,
Katedra Chemii,
Akademia Rolnicza,
ul. Norwida 25,
50-375 Wrocław.

biotechnologia

3 (50) 106–117 2000

Key words:

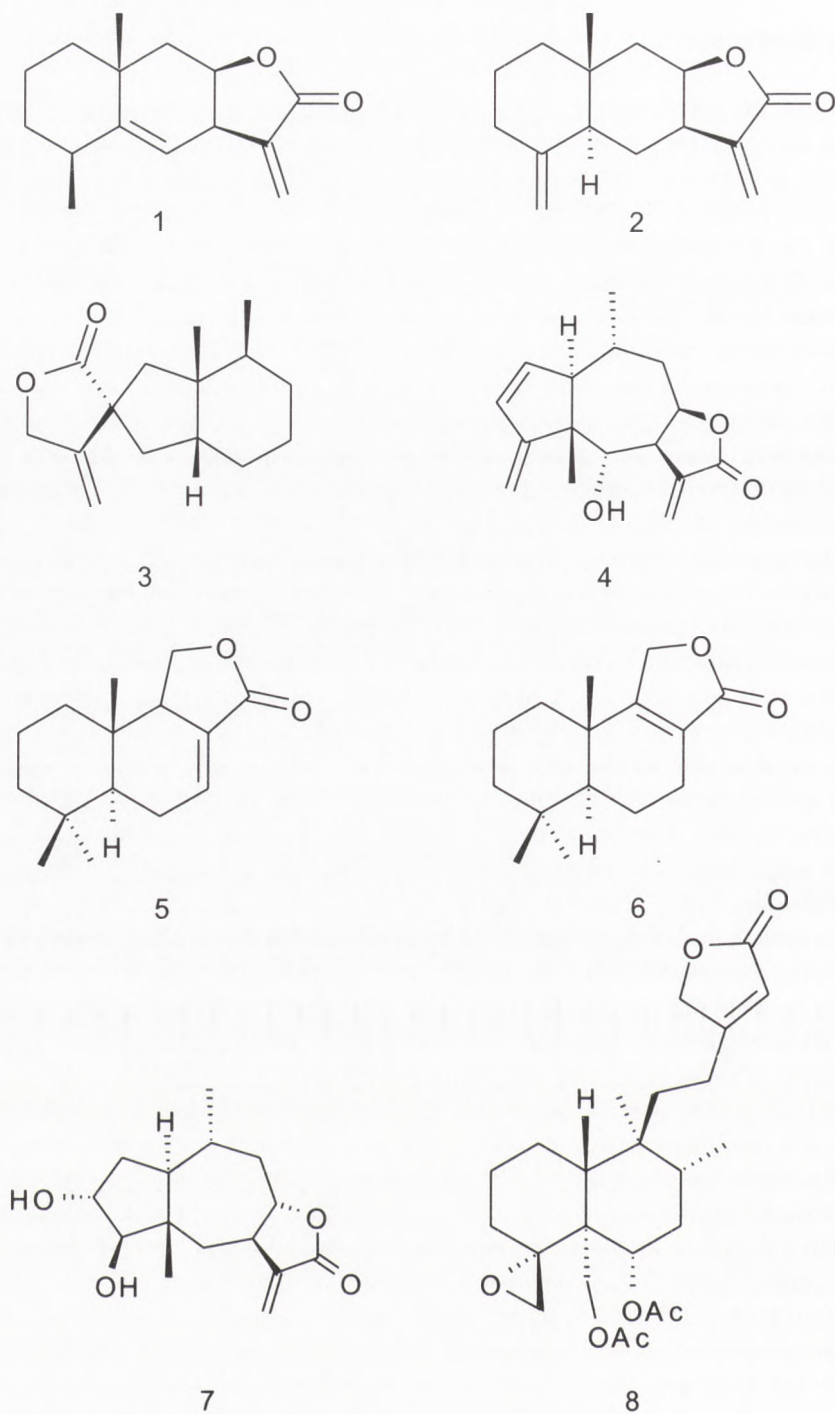
δ -hydroxy- γ -lactones, γ -hydroxy- δ -lactones, antifeedants, *Sitophilus granarius*, *Tribolium confusum*, *Trogoderma granarium*.

1. Wprowadzenie

Kolejną, po pyretroidach, grupą związków pochodzenia naturalnego, którą próbuje się wykorzystać do ograniczenia populacji szkodliwych gatunków owadów są deterenty pokarmowe zwane inaczej antyfidantami. Są to substancje głównie pochodzenia roślinnego częściowo lub całkowicie hamujące żerowanie owadów. Zazwyczaj są one nietoksyczne wobec owadów, bądź toksyczne tylko w niewielkim stopniu. Oddziałują natomiast na ich narządy smaku, powodując zaprzestanie żeru i w efekcie śmierć głodową owadów, pozostających nierzadko w pobliżu pokarmu potraktowanego antyfidantem. Charakterystyczną cechą antyfidantów jest selektywność działania. Są one aktywne wobec wąskiej grupy owadów, pozostając obojętne wobec innych. Różnią się tym zdecydowanie od klasycznych insektycydów, których zakres działania jest szeroki, tak że skierowane przeciw szkodnikom, niszczą również naturalnych ich wrogów. Ponadto wiele ze stosowanych insektycydów, w przeciwieństwie do antyfidantów, wykazuje toksyczność w stosunku do kręgowców.

Stosowanie naturalnych antyfidantów jako środki ochrony roślin czy magazynów żywności na szerszą skalę jest ograniczone, gdyż występują one w roślinach w niewielkich ilościach i pozyskiwanie ich na skalę przemysłową jest trudne ze względów technicznych. Również ich synteza jest trudna i kosztowna, gdyż są to w większości związki o skomplikowanych strukturach. Dlatego też, jak się wydaje, większe szanse na praktyczne zastosowanie mogą mieć syntetyczne, bardziej lub mniej „wierne” analogi strukturalne naturalnych antyfidantów. Takie właśnie podejście do problematyki antyfidantów wykreowało cele naszych badań. Wybór laktonów jako grupy związków będącej przedmiotem tych badań był spowodowany tym, że wiele naturalnych antyfidantów w swojej strukturze zawiera ugrupowanie laktonowe.

Najbardziej liczną grupę naturalnych antyfidantów stanowią laktony seskwiterpenowe izolowane z rodziny *Compositae* i *Umbelliferae* (2,3). Dwa izomeryczne laktony alantolakton (1) i izoalantolakton (2) (rys. 1) zostały wyizolowane z *Lycophelea heterophylla* (4). Znany z wysokiej aktywności w stosunku do szkodników magazynów zbożowych antyfidant bakkenolid A (3) został wyizolowany z *Homogyne alpina* (5,6). Wysoką aktywność deterenta pokarmowego w stosunku do stonki ziemniaczanej obserwowano dla helenaliny (4). W grupie antyfidantów pochodnych drimanowych znajdują się również dwa izomeryczne laktony cinnamolid (5) i confertifolin (6). Wiele izolowanych z roślin laktonów wykazuje obok aktywności deterentów pokarmowych owadów także inne interesujące właściwości biologiczne. Na przykład gaigarinin (7) charakteryzuje się wysoką aktywnością grzybobójczą. Również w innych grupach związków izoprenoidowych znajdują się laktony o aktywności antyfidantnej. Spośród diterpenowych związków najbardziej znanym deterentem pokarmowym jest wyizolowany z *Ajuga remota* rośliny z rodziny *Lamiaceae* *ajugarin* (8), który jest silnym antyfidantem w stosunku do larw motyla *Plutella xylostella*.



Rys. 1. Naturalne deterenty pokarmowe owadów z ugrupowaniem laktonowym.

Prowadząc badania mające na celu otrzymanie syntetycznych antyfidantów uzyskaliśmy kilkadziesiąt bi- i tricyklicznych laktonów terpenoidowych (8,9), które wykazały znaczną aktywność deterentną w stosunku do owadów szkodników magazynów zbożowych: wołka zbożowego (*Sitophilus granarius* L.), trojszyka ulca (*Tribolium confusum* Duv.) i skórka zbożowego (*Trogoderma granarium* Ev.) (10). W przypadku niektórych laktonów z układem limonenu aktywność ta była porównywalna z aktywnością oznaczoną dla najbardziej znanych antyfidantów: azadirachtyny i bakkenolidu (11).

Substratami wyjściowymi w przeprowadzonych syntezach były czyste enancjomerycznie węglowodory (limonen, pinen) lub alkohole (perylowy, myrtenol) terpenowe. Izoprenoidowa struktura otrzymywanych preparatów laktonowych zapewnia ich łatwą biodegradowalność w środowisku naturalnym. W przypadku zastosowania ich do kontroli populacji szkodliwych gatunków owadów będą to środki bezpieczne ekologicznie.

W artykule tym prezentujemy wyniki badań biologicznych prowadzonych na grupie monocyklicznych hydroksylaktonów terpenoidowych oraz bicyklicznego hydroksylaktonu terpenowego z układem gem-dimetylocykloheksanu i ich octanów.

2. Badane związki i metody testowania

2.1. Badane związki

Monocykliczne δ -hydroksy- γ -laktony oraz γ -hydroksy- δ -laktony otrzymano w czteretapowych syntezach z: bromku izobutyli i aldehydu krotonowego (9,14,18); bromku neopentyli i aldehydu krotonowego (10,15,19); bromku izobutyli i aldehydu 3-metylo-krotonowego (13,20). Procedury syntezy oraz właściwości fizyczne i spektroskopowe laktonów zaprezentowano wcześniej (12).

Czyste enancjomery (+)-4S,5S,1'R)-12 i (-)-(4R,5R,1'S)-11 *trans* izomeru oraz (-)-(4S,5R,1'S)-16 i (+)-(4R,5S,1'R)-17 izomeru *cis* otrzymano w takim samym sekwencie reakcji jak racemiczne laktony (13). Produkt pierwszego etapu, reakcji Grignarda bromku neopentylomagnezowego z aldehydem krotonowym, racemiczny 6,6-dimetylo-2-hepten-4-ol poddano rozdzielaniu na czyste enancjomery stosując metodę epoksydacji Sharplessa (14).

Kolejne etapy: przegrupowanie Claisena, epoksydację γ,δ -nienasyconego estru wykonano już na czystych enancjomerach, a kwasową laktonizację epoksyestrów na mieszaninie diastereoizomerów.

Acetoksy-laktony (21-28) uzyskano w wyniku reakcji odpowiednich hydroksylaktonów z chlorkiem acetylu prowadzonej w obecności pirydyny wykonanej według standardowej metody (15). Widma spektroskopowe (IR, ^1H NMR) potwierdziły struktury otrzymanych związków. Wydajności przeprowadzonych syntez oraz stałe fizyczne octanów przedstawione są poniżej.

trans 5-(1'-Acetoksy-3'-metylobutylo)-4-metylo-tetrahydrofuran-2-on (21):

wydajność: 94%; $n_D^{20} = 1,4441$

trans 5-(1'-Acetoksy-3',3'-dimetylobutylo)-4-metylo-tetrahydrofuran-2-on (22):

wydajność: 90%; $n_D^{20} = 1,4451$

5-(1'-Acetoksy 3'-metylobutylo)-4,4-dimetylo-tetrahydrofuran-2-on (23):

wydajność 93%; temp. topnienia 41°C

cis 5-(1'-Acetoksy-3'-metylobutylo)-4-metylo-tetrahydrofuran-2-on (24):

wydajność: 92%; temp. wrzenia: 89°C/3,5 mm Hg; $n_D^{20} = 1,4481$

cis 5-(1'-Acetoksy-3',3'-dimetylobutylo)-4-metylo-tetrahydrofuran-2-on (25)

wydajność 93%; $n_D^{20} = 1,4453$

5-Acetoksy-4-metylo-6-(2'-metylopropylo)-tetrahydro-2H-pyran-2-on (26):

wydajność: 95%; temp. topnienia 56°C

5-Acetoksy-4-metylo-6-(2',2'-dimetylopropylo)-tetrahydro-2H-pyran-2-on (27)

wydajność: 91%; temp. topnienia 92°C

5-Acetoksy-4,4-dimetylo-6-(2'metylopropylo)-tetrahydro-2H-pyran-2-on (28)

wydajność: 92%; temp. topnienia 68°C

Hydroksylakton **29** został otrzymany w sześćoetapowej syntezie z dimedonu (16). Ostatni etap, kwasową laktonizację estru etylowego kwasu (5,5-dimetylo-2,3-epoksycykloheks-1-ylo) octowego prowadzono z udziałem HClO_4 w roztworze THF – woda (THF : H_2O : HClO_4 , 10:5:0.1) (15). Mieszanie hydroksylaktonu (83%) i dioloestru (17%) otrzymano jako produkt tej reakcji. Czysty hydroksylakton izolowano z tej mieszaniny za pomocą chromatografii kolumnowej, (żel krzemionkowy, heksan:aceton, 2:1).

Acetoksylakton **30** (temp. top. 54°C) uzyskano z 96% wydajnością jako produkt reakcji hydroksylaktonu **29** z chlorkiem acetylu. Widma ^1H NMR i IR potwierdziły jego strukturę.

2.2. Metody testowania

Testy biologiczne na aktywność deterentną badanych laktonów zostały przeprowadzone w Instytucie Ochrony Roślin w Poznaniu. Wykonano je na: chrząszczach wołka zbożowego (*Sitophilus granarius* L.), chrząszczach i larwach trojszyka ulca (*Tribolium confusum* Duv.) oraz larwach skórka zbożowego (*Trogoderma granarium* Ev.).

Owady użyte do testów były hodowane w laboratorium w temperaturze 26°C przy względnej wilgotności powietrza 75%. Jako pokarmu użyto opłatków pszennych nasączonych acetonowymi roztworami badanych substancji, a miarą ich deterentnego działania był ciężar zjedzonego pokarmu w czasie 5-dniowego żerowania szkodników. Ze względu na różne ilości pokarmu zjedanego przez poszczególne owady w tym samym czasie do doświadczeń używano po 3 chrząszcze wołka zbożowego, 20 chrząszczy trojszyka ulca oraz po 10 larw skórka zbożowego i trojszyka ulca.

Zastosowano dwie metody testów (17): z wyborem (*choice test*) oraz bez wyboru (*no choice test*).

Test z wyborem (*choice test*) prowadzono w 1 pudełku w pięciu powtórzeniach. W pudełku tym umieszczano 2 krążki opłatków – jeden kontrolny, traktowany czystym acetonem oraz drugi testowy, traktowany 1% acetonowym roztworem związku (przez zanurzenie krążka). Krążki suszono na powietrzu 30 minut, następnie ważono je przed podaniem owadom oraz po pięciu dniach żerowania. Ciężar zjedzonego pokarmu z krążka kontrolnego (K) i z krążka testowego (E) były podstawą do obliczenia względnego współczynnika deterentności (R) wg wzoru:

$$R = \frac{K - E}{K + E} \times 100$$

Test bez wyboru (*no choice test*) prowadzono w 2 pudełkach w pięciu powtórzeniach. W pierwszym, kontrolnym, umieszczano 2 krążki traktowane czystym acetonem, a w drugim 2 krążki nasycone 1% acetonowym roztworem związku (przez zanurzenie krążka). Po wysuszeniu na powietrzu w ciągu 30 minut, krążki również ważono przed podaniem owadom i po 5 dniach żerowania. Ciężar zjedzonego pokarmu w kontroli (KK) i ciężar zjedzonego pokarmu traktowanego związkiem (EE) były podstawą do obliczenia absolutnego współczynnika deterentności (A) wg wzoru:

$$A = \frac{KK - EE}{KK + EE} \times 100$$

Wyniki zostały opracowane statystycznie na poziomie istotności $P = 0,05$.

3. Dyskusja wyników

Hydroksylaktony (9-20,29) i ich octany (21-28,30) poddano testom biologicznym na aktywność deterentów pokarmowych (antyfidantną) w stosunku do trzech gatunków owadów – szkodników zbożowych: wołka zbożowego (*Sitophilus granarius* L.), trójczyka ulca (*Tribolium confusum* Duv.) i skórka zbożowego (*Trogoderma granarium* Ev.).

Wybór owadów jest uzasadniony dużą ich szkodliwością i trudnościami w zwalczaniu. Żerują one głównie w magazynach, w których przechowuje się ziarno zbóż i są bardzo uciążliwymi szkodnikami w naszej strefie klimatycznej. Ich zdolności do szybkiej reprodukcji i odporność na niskie temperatury powodują, że są trudne do kontroli. Szczególnie trudny do zwalczania jest wołek zbożowy. Chemiczne sposoby zwalczania tego szkodnika są oparte na stosowaniu fumigantów (jodek metylu i fosforowodór). Są to związki ekologicznie trudne do zaakceptowania. Ponadto obserwuje się zwiększenie odporności zwalczanych owadów na te preparaty. Istnieje zatem potrzeba opracowania skutecznych i ekologicznie bezpiecznych metod zwal-

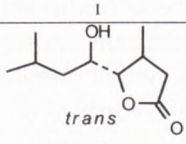
czania tych szkodników. Wydaje się, że antyfidanty o strukturze izoprenoidowej będą spełniać te wymogi i staną się dobrymi czynnikami regulującymi populacje tych gatunków owadów.

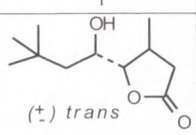
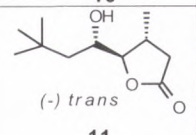
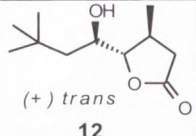
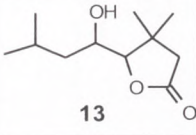
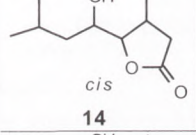
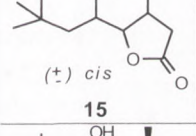
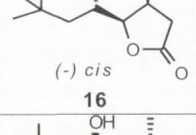
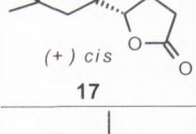
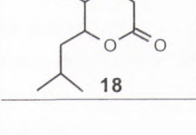
Testy wykonano dwiema metodami. W jednej z nich owady miały do wyboru pokarm nasycony badanym związkem oraz pokarm bez niego (test z wyborem), a w drugiej owady mogły spożyć tylko pokarm potraktowany potencjalnym antyfidantem (test bez wyboru). Zastosowane metody mają zarówno zalety jak i wady. Testy metodą „bez wyboru” lepiej naśladują sytuację podczas stosowania środków ochrony roślin w praktyce, szczególnie w przypadkach owadów monofagicznych. Testy metodą „z wyborem” są bardziej czułe. Potwierdzono to w licznych doświadczeniach. Shoonhoven i Derksen-Koppers zaobserwowali (18), że polifagiczna mszyca brzoskwiowa (*Myzus persicae*) łatwo akceptowała związki chemiczne w testach „bez wyboru”, podczas gdy w testach „z wyborem” preferowała pokarm bez związków testowanych. W testach „z wyborem” aktywność preparatu oznaczono za pomocą współczynnika względnego (R), a w testach „bez wyboru” o aktywności informuje współczynnik absolutny (A). Żaden jednak z tych współczynników nie wyraża w pełni aktywności preparatu. Za miarę aktywności antyfidantnej danego związku przyjmuje się współczynnik sumaryczny (T), będący sumą dwóch poprzednich ($T = A + R$). Wartość współczynnika sumarycznego zawiera się w granicach od -200 do +200. Preparaty charakteryzujące się współczynnikiem sumarycznym od 50 do 100 uznaje się za średnioaktywne. Za aktywne można uznać związki dla których oznaczono współczynniki sumaryczne od 100 do 200, przy czym te powyżej 150 uznaje się za bardzo aktywne antyfidanty. Związki posiadające ujemne współczynniki sumaryczne deterentności są atraktantami pokarmowymi w stosunku do badanych owadów.

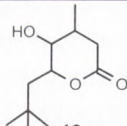
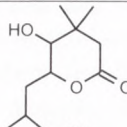
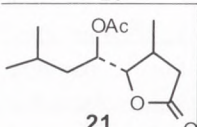
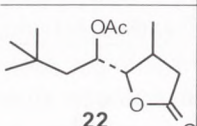
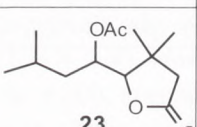
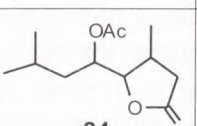
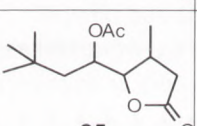
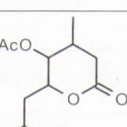
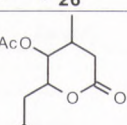
Wyniki badań biologicznych otrzymanych przez nas hydroksylaktonów i acetoksylaktonów na aktywność antyfidantną przedstawiono w tabeli w postaci sumarycznych współczynników deterentności.

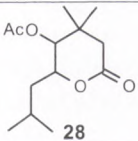
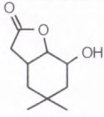
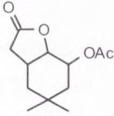
Tabela 1

Aktywność antyfidantna hydroksylaktonów i acetoksylaktonów

Związek	Skórek zbożowy <i>Trogoderma granarium</i> (larwy)	Trojszyk ulec <i>Tribolium confusum</i> (chrząszcze)	Trojszyk ulec <i>Tribolium confusum</i> (larwy)	Wolek zbożowy <i>Sitophilus granarius</i> (chrząszcze)
	2	3	4	5
 <p>1 OH trans 9</p>	141,1	51,8	76,6	97,6

1	2	3	4	5
 <p>(±) <i>trans</i> 10</p>	60,3	165,0	107,0	25,2
 <p>(-) <i>trans</i> 11</p>	* n.t.	102,9	89,4	n.t.
 <p>(+) <i>trans</i> 12</p>	n.t.	197,2	133	n.t.
 <p>13</p>	83,9	21,1	61,1	52,0
 <p><i>cis</i> 14</p>	99,7	47,9	92,5	67,4
 <p>(±) <i>cis</i> 15</p>	127,9	79,1	102,9	-3,2
 <p>(-) <i>cis</i> 16</p>	39,5	n.t.	85,4	n.t.
 <p>(+) <i>cis</i> 17</p>	174,6	n.t.	112,9	n.t.
 <p>18</p>	110,8	99,8	123,9	51,4

1	2	3	4	5
 19	47,1	124,6	70,7	-45,5
 20	38,8	75,0	47,6	32,5
 21	31,7	80,6	28,1	149,9
 22	71,5	142,2	76,6	25,2
 23	125,5	151,5	76,4	75,7
 24	110,8	143,6	66,2	79,0
 25	105,9	147,6	103,1	68,7
 26	15,8	96,1	59,8	45,2
 27	70,1	127,5	23,7	42,8

1	2	3	4	5
 28	92,9	133,3	49,4	95,9
 29	12,5	5,3	41,3	44,1
 30	83,7	129,2	80,3	34,0
Azadirachtyna	194,2	185,0	188,4	174,3

* n.t. – nie testowano

Wyniki zamieszczone w tabeli 1 wskazują, że spośród testowanych hydroksylaktonów i ich octanów monocykliczne połączenia wykazały dobrą i średnią aktywność w stosunku do chrząszczy wołka zbożowego i trojszyka ulca oraz larw tego ostatniego owada. Spośród δ -hydroksy- γ -laktonów najbardziej aktywnym okazał się *trans*-(4S,5S,1'R) izomer laktonu homoterpenowego (12). Obserwowano dla niego aktywność (sumaryczny współczynnik 197,2) w stosunku do chrząszczy trojszyka ulca porównywalną do oznaczonej dla najbardziej znanego i najbardziej aktywnego antyfidanta – azadirachtyny (sumaryczny współczynnik 185). Izomer *cis* tego związku (17), jak się okazało, jest najbardziej aktywnym antyfidantem w stosunku do larw skórka zbożowego. Sumaryczny współczynnik deterentności ($T = 174,6$) jest również podobny do oznaczonego dla azadirachtyny ($T = 194,2$). Porównując współczynniki deterentności dwóch izomerycznych połączeń (12 i 17) należy zauważyć ogromny wpływ budowy przestrzennej związku na specyficzność działania preparatu. Wpływ budowy przestrzennej związku na aktywność można również obserwować dla enancjomerycznych par laktonów 11 i 12 oraz 16 i 17. Lakton 12 będący lustrzanym odbiciem związku 11 wykazuje dwukrotnie wyższą aktywność w stosunku do chrząszczy trojszyka ulca, a lakton 17 prawie pięciokrotnie wyższą aktywność w stosunku do larw skórka zbożowego niż jego lustrzane odbicie, lakton 16. Można zauważyć, że enancjomery o konfiguracji S centrum chiralnego C-4 są bardziej aktywne niż enancjomery o konfiguracji R tego centrum. Odmiany racemiczne tych laktonów (10 i 15) charakteryzowały się pośrednią aktywnością, wyższą od izomerów 4R i niższą od izomerów 4S.

Octany racemicznych γ -laktonów okazały się głównie aktywne w stosunku do chrząszczy trojszyka ulca. Ich sumaryczne współczynniki deterentności z wyjątkiem octanu **22** były wyższe niż ich odpowiednich prekursorów, hydroksylaktonów. Zwraca uwagę zdecydowanie wyższa aktywność octanu **23** od hydroksylaktonu **13** z którego został otrzymany.

γ -hydroksy- δ -laktony **18**, **19** i **20** okazały się średnioaktywne tylko w stosunku do chrząszczy trojszyka ulca. Lakton **18** wykazał również dobrą aktywność w stosunku do larw skórka zbożowego i trojszyka ulca. W odróżnieniu od octanów δ -hydroksy- γ -laktonów octanowe pochodne γ -hydroksy- δ -laktonów wykazały bądź podobną aktywność (**26**) lub tylko niewiele wyższą (**27**, **28**) od swoich prekursorów.

Bicykliczny hydroksylakton **29** okazał się nieaktywny w stosunku do badanych owadów, a jego octan **30** wykazał znaczącą aktywność jedynie w stosunku do chrząszczy trojszyka ulca.

4. Podsumowanie

1. Wyniki testów na aktywność badanych hydroksylaktonów i acetoksylaktonów potwierdziły, w naszej ocenie, celowość prowadzenia tego typu badań tzn. poszukiwań syntetycznych deterentów pokarmowych owadów.

2. W badaniach wykazano, że aktywność deterentna tych połączeń, podobnie jak większość związków biologicznie czynnych, zależy nawet od drobnych zmian w strukturze cząsteczki. Wpływ konfiguracji centrów chiralnych cząsteczki na aktywność można obserwować porównując sumaryczne współczynniki deterentności izomerycznych par związków: **11** i **12**, **16** i **17** oraz **10** i **15**. Wpływ dodatkowej grupy metylowej i jej miejsca w cząsteczce ilustruje aktywność trzech izomerycznych δ -hydroksy- γ -laktonów **9**, **10** i **13**, γ -hydroksy- δ -laktonów **18**, **19** i **20** oraz ich acetylowych pochodnych **26**, **27** i **28**.

3. W badanych związkach wykazano specyficzność działania. Były aktywne w stosunku do skórka zbożowego i trojszyka ulca i nie przejawiały aktywności w stosunku do wołka zbożowego.

4. Porównując aktywności poszczególnych laktonów w stosunku do chrząszczy i larw trojszyka ulca można zaobserwować, że aktywność ta jest zróżnicowana w stosunku do różnych stadiów rozwojowych owada. Chrząszcze okazały się bardziej wrażliwe na działanie preparatów niż larwy.

Autorzy dziękują Panu drowi Z. Winiękiemu za wykonanie części testów biologicznych.

Literatura:

1. Lactones 9: Paruch E., Ciunik Z., Nawrot J. Wawrzeńczyk C., (2000), J. Agric. Food Chem. (w druku).
2. Błoszczyk E., Dudek A., Kosturkiewicz Z., Rychlewska U., Daniewski W. M., Gomułka M., Nawrot J., Budesinski M., Vasickova S., Holub M., (1998), Collect. Czech. Chem. Commun., 54, 1903-1918.

3. Nawrot J., Drożdż B., Holub M., (1983), *Herba Polonica*, 31, 209-212.
4. Streibl M., Nawrot J., Herout V., (1983), *Bioch. Syst. Ecol.*, 11, 381-382.
5. Nawrot J., Harmatha J., Novotny L., (1984), *Bioch. Syst. Ecol.*, 12, 99-101.
6. Mori K., Matsushima Y., (1995), *Synthesis*, 845-850.
7. Okada K., Kobayashi A., Mori K., (1983), *Agric. Biol. Chem.*, 47, 1071-1074.
8. Paruch E., Ciunik Z., Wawrzeńczyk C., (1998), *Eur. J. Org. Chem.*, 2677-2682.
9. Paruch E., Ciunik Z., Wawrzeńczyk C., (1997), *Liebigs Ann. Chem.*, 2341-2345.
10. Wawrzeńczyk C., Paruch E., Olejniczak T., Saletra A., Nawrot J., Prądkyńska A., Halarewicz-Pacan A., Gabryś B., (1997), *Insects Chemical, Physiological and Environmental Aspects*, Ed. Konopińska D., 222-227, Wyd. UWr., Wrocław.
11. Nawrot J., Harmatha J., Błoszyk E., (1987), *Proc. of the 4th Int. Work. Conf. Stored Product Protection*, Ed. Donahay E., Navarro S., Tel Aviv, 591-597.
12. Olejniczak T., Nawrot J., Ciunik Z., Wawrzeńczyk C., (2000), *Pol. J. Chem.*, 74, 673-680.
13. Olejniczak T., Gawroński J., Wawrzeńczyk C., (2000), *Chirality* (w druku).
14. Martin V. S., Woodard S. S., Kotsuki T., Yamada Y., Ikeda M., Sharpless K. B., (1981), *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 6237-6240.
15. Olejniczak T., (1998), *Chemiczna i mikrobiologiczna synteza laktonów*, praca doktorska, Uniwersytet Wrocławski.
16. Olejniczak T., Grabarczyk M., Wawrzeńczyk C., (2000), *J. Mol. Catal. B: Enzymatic* (w druku).
17. Nawrot J., Błoszyk E., Harmatha J., Novotny L., Drożdż B., (1986), *Eur. J. Entomology* (wcześniej *Acta Entomol. Bohemoslov*), 83, 327-335.
18. Schoonhoven L. M., Derksen-Koppers I., (1976) *Ent. Exp. Appl.*, 19, 52-56.