

# Sesquiterpeni lattonici di interesse farmacologico: proprietà strutturali e funzionali. Parte I: eudesmanolidi

PAOLO BARBETTI (a) e CARLO GIULIO CASINOVÌ (b)

(a) Istituto di Chimica delle Sostanze Naturali, Università degli Studi, Perugia

(b) Laboratorio di Chimica del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I lattoni naturali di natura terpenoidica e biologicamente attivi sono largamente diffusi nel mondo vegetale, in misura minore in quello animale e fra i metaboliti di microorganismi, e da circa un trentennio vengono studiati sia dal punto di vista della loro bioattività, sia da quello della definizione chimico-strutturale nella prospettiva di elucidarne la relazione attività-struttura [1-12].

In particolare nella serie dei  $\gamma$ -lattoni sono state evidenziate molteplici e spiccate attività biologiche che pongono tali composti naturali su un piano di grande interesse di ricerca [1]: attività vitaminiche, attività cardiache, azioni inibitorie su germinazioni di semi e sulla crescita di piante, azioni citostatiche e citotossiche, attività carcinogeniche e antitumorali, azioni antimicrobiche [13], antiallergiche e dermatitiche [14, 15] ed anche attività immunologiche [16], antischistosomiali [17] e fungicide [18].

La famiglia dei  $\gamma$ -lattoni sesquiterpenici, costituenti naturali di molte piante [19], principalmente della famiglia delle *Compositae*, presenta la maggior parte dei casi di attività citostatiche, citotossiche, carcinogeniche e anti-neoplastiche, rivestendo perciò un interesse di grande portata scientifica.

L'anello  $\gamma$ -butirro lattonico, infatti, particolarmente se  $\alpha$ - $\beta$ , insaturo, è stato individuato quale funzione chimica necessaria per una significativa citotossicità di queste sostanze [20, 21], con un incremento della azione biologica apportato da ulteriori funzioni ossigenate quali carbonili insaturi [22, 23] o anelli epossidici [24].

Indagini condotte su sistemi enzimatici [25, 26] hanno evidenziato che tali lattoni sesquiterpenici bio-attivi inibiscono, ad esempio, la fosfofruttochinasi ed altri enzimi sulfidrilici come la glicogeno sintetasi, l'RNA polimerasi-DNA dipendente, confortando l'ipotesi che l'inibizione della crescita

tumorale sia da attribuire alla alchilazione di gruppi nucleofili sulfidrilici mediante una reazione tipo-Michael [22, 27-29] a carico di enzimi chiave che controllano la divisione cellulare, ipotesi verificata sia *in vitro* che *in vivo* [21, 30-33] ed in misura nettamente maggiore rispetto ad altri agenti alchilanti classici quali la iodioacetammide [34]. Non viene escluso, inoltre, che una azione sinergica di queste sostanze possa essere svolta nel senso di una sottrazione di cisteina seguita da una S-alchilazione di proteine metabolicamente essenziali [25, 35, 36].

La bioattività di tali agenti alchilanti  $\gamma$ -lattonici sarebbe esplicata selettivamente verso tioli o altri nucleofili, verso particolari enzimi sulfidrilici, verso specifici gruppi sulfidrilici entro uno stesso enzima, dipendentemente da vari fattori strutturali, di lipofilicità, elettronici, stereochimici, ecc.

Tentativi per correlare l'attività inibitoria a carico di enzimi ai parametri chimico-fisici caratteristici dei lattoni insaturi sono stati esperiti [23, 31, 37] con lo scopo di individuare tra di essi sostanze che avessero una rimarchevole attività biologica ed una relativamente bassa tossicità nell'applicazione di terapie antineoplastiche e questo campo di ricerca è tutt'ora aperto ad una più profonda e definitiva soluzione del problema.

I risultati attuali della applicazione della Relazione Quantitativa Attività-Struttura (Q.S.A.R.) in analisi regressiva di Hansch [36, 38, 39] o in quella modificata di Kubinyi [40] sulla serie dei lattoni antimicrobici e anti-tumorali ha consentito di evidenziare la essenzialità del ruolo svolto dalla insaturazione  $\alpha, \beta$ -lattonica, in particolare esometilenica [33, 41, 42], il ruolo di una eventuale funzione epossidica [24] e carbonilica insatura [22, 23], nonché di individuare l'ideale carattere lipofilo per il trasporto nei liquidi cellulari, per la interazione con il recettore ed anche per la caratterizzazione della natura delle macromolecole biologiche che portano i siti nucleofili.

Lo studio delle proprietà citotossiche dei sesquiterpeni lattonici è stato eseguito sia *in vitro* [31, 41] su colture tissutali di cellule umane: carcinoma della nasofaringe KB, carcinoma della cervice uterina HeLa, carcinoma della laringe H Ep-2, carcinomi di Walker 253 e 256; su linee di cellule animali quali quelle della leucemia linfoblastica murina P-388; su cellule modificate da virus tumorale della scimmia (W18V a 2, SV40), sia *in vivo* [44, 45] su sarcomi Sa-180, carcinomi ascitici di Erlich, leucemie essudative L-1210.

Per questi scopi sono stati applicati metodi di determinazione della citotossicità di comune impiego [43, 46-50], mediante i quali sono stati saggiati e posti a confronto numerosi lattoni sesquiterpenici naturali ed anche sintetici [51-53].

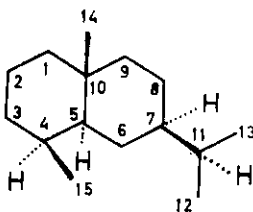
Il presente lavoro descrive in rassegna i numerosi sesquiterpeni lattonici biologicamente attivi conosciuti, suddivisi in famiglie chimiche, esponendo per ciascuno in maniera sintetica, i parametri chimico-fisici utilizzati per la elucidazione della struttura molecolare ed i dati sperimentali della bio-

attività, espressa nel parametro  $ED_{50}$  (dose efficace che inibisce al 50 % la crescita delle cellule della linea tumorale cui si riferisce): ricordiamo che, nel caso di prodotti puri, è considerata soddisfacente una  $ED_{50} \leq 10 \mu\text{g/ml}$ . Il termine  $ID_{50}$  (dose di irritazione) si esprime in termini di concentrazione micromolecolare ( $\mu\text{M}$ ).

Riteniamo questa raccolta organica di dati sperimentali un utile « materiale di base » per un ulteriore grado di avanzamento nella definizione sempre più approfondita ed argomentata del rapporto fra la bio-attività e la struttura chimica di questa interessante famiglia di sesquiterpeni naturali.

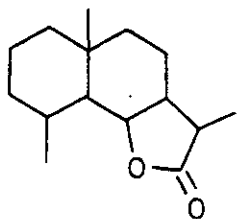
Abbiamo adottato un criterio di classificazione dei sesquiterpeni lattonici in esame che si basa sulle classiche suddivisioni in famiglie chimiche per scheletro di atomi di carbonio: eudesmanolidi, guaianolidi, germacranolidi, riportando per ciascuna famiglia le strutture ricorrenti nelle più comuni sottofamiglie e aggiungendo separatamente alcuni esempi di scheletri particolari non riconducibili alle consuete famiglie di tali composti.

## EUDESMANOLIDI

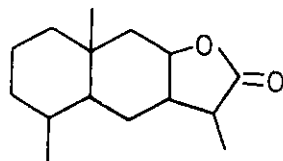


I. - EUDESMANO

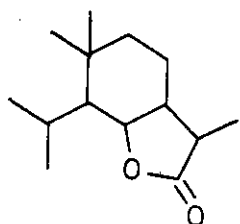
Sottofamiglie di eudesmanolidi ricorrenti nei sesquiterpeni lattomici biologicamente attivi:



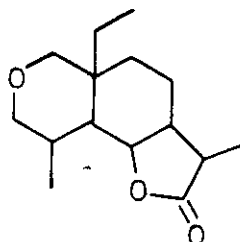
II. - 6-EUDESMANOLIDE



III. - 8-EUDESMANOLIDE

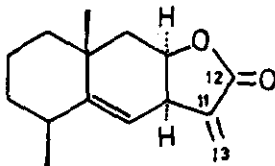


IV. - ELEMENOLIDE



V. - PSEUDOELEMENTANOLIDE

## VI. - ALANTOLATTONE [7.54-56]



$C_{15}H_{20}O_2$ , PM = 232, p. f. = 79-80 °C (Et. Pet.),  $[\alpha]_D = +165^\circ$  (C = 1,77).

Isolato da *Inula helenium*, *grandis*, *magnifica*, *racemosa*, *royleana*, *salicina*, *bifrons* (Compositae).

U. V. = ( $\lambda_{Max}$ , nm) 211 ( $\epsilon = 9470$ )

I. R. = ( $\nu_{Max}$ ,  $cm^{-1}$ ) 1745 ( $\gamma$ -lattone), 1645, 893, 885, 813 (esometilene), 862 ( $>C = CH -$ )

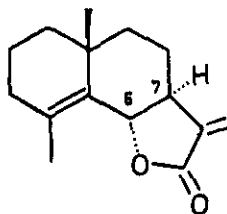
$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CCl_4$ , 60 Mz) 6,12 (1H, d, J = 2 cps) e 5,57 (1H, d, J = 1,7 cps) esometilene, 5,17 (1H, d, J = 4 cps), H vinilico, 4,80-4,67 (1H, m) H lattone, 3,49-3,63 (1H, m) H allilico, 1,25 metile secondario, 1,11 metile terziario.

Bioattività: citotossico verso coltura di carcinoma umano della nasofaringe KB;  $ED_{50} = 1,4 \mu g/ml$ .

Allergenico, responsabile di dermatiti da contatto. Alcuni derivati strettamente correlati all'alantolattone e all'isoalantolattone sono dotati di attività antielmintica.

a 10

## VII. - [+] ARBUSCULINA B [57,58]



$C_{15}H_{20}O_2$ , PM = 232, p. f. 86-88 °C (n-pentano),  $[\alpha]_D = +46^\circ$  (C = 0,10, in  $CHCl_3$ ).

Estratta da *Artemisia tridentata*, *Artemisia arbuscula* e *Frullania dilatata*.

U. V. = ( $\lambda_{Max}$ , nm) 206 ( $lg\varepsilon = 4,2$ ).

I. R. = ( $\nu_{Max}$ ,  $cm^{-1}$ ,  $CHCl_3$ ) 1775 ( $\gamma$ -lattone insaturo), 1660, 1452, 1290, 1254, 1146, 1133, 1034, 978, 941, 907.

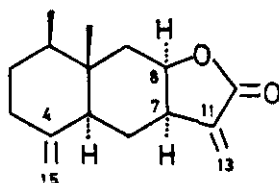
MS = (m/e) 232 ( $M^+$ ), 217, 161, 145, 119, 91, 79.

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ ) 6,12 (1H, d, J = 3 Hz) e 5,44 (1H, d, J = 3Hz) esometilene, 4,52 (1H, dq, J = 1,5-12 Hz) H lattonico, 2,53 (1H, tt, J = 11-3 Hz), 1,85 (3H, s) metile vinilico, 1,11 (3H, s) metile terziario.

È stata preparata anche per via sintetica.

Bioattività: da tests allergenici è risultata attiva nella produzione di ipersensibilità dermatitica sull'uomo.

## VIII. - ASPERILINA [7'59,60]



$C_{15}H_{20}O_3$ , PM = 248, p. f. 151-152 °C,  $[\alpha]_D = +149,6^\circ$  ( $CHCl_3$ ).

Estratto da *Iva asperifolia* (*Compositae*), Messico.

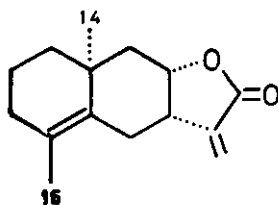
U. V. = ( $\lambda_{Max}$ , nm) 211 ( $\epsilon = 8730$ )  $\gamma$ -lattone insaturo.

I. R. = ( $\nu_{Max}$ ,  $cm^{-1}$ ) 3700, 3500 (OH), 1655 (insaturazioni olefiniche), 1755 ( $\gamma$ -lattone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ ) 6,01 (1H, d,  $J \sim 1$  cps) e 5,48 (1H, d,  $J \sim 1$  cps) esometilene lattonico, 4,85 (1H, d,  $J \sim 1,5$ ) e 4,50 (2H, m) esometilene non coniugato e H lattonico, 3,4 (1H, m,  $J_{AX} = 6$  cps) H alcolico, 0,80 (3H, s) metile terziario.

Bioattività: attività citotossica verso colture di cellule KB;  $ED_{50} = 1,0 \mu g/ml$ .

## IX. - DIPILOFILLINA [61]



$C_{15}H_{20}O_3$ , PM = 232, p. f. = 30-31,5 °C,  $[\alpha]_D = 108^\circ$ .

Estratta da *Diplophyllum albicans* e *Diplophyllum taxifolium*.

D. C. =  $\Delta\epsilon_{267} = + 2,8$ ,  $\Delta\epsilon_{235} = - 4,5$  ( $\gamma$ -lattone),  $\Delta\epsilon = + 69$  (olefina  $\pi \rightarrow \pi^*$ ) (6 mM, MeOH).

I. R. = ( $\nu_{max}$ ,  $cm^{-1}$ , film) 1767 ( $\gamma$ -lattone coniugato), 1660, 1260, 1115, 1002, 810.

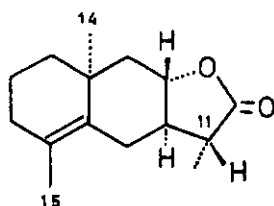
M. S. = (m/e) 232,14 ( $M^+$ ), 217,12, 171,12, 161,06, 121,10.

$^1H$ -NMR = ( $\delta_{ppm}$ ,  $CDCl_3$ , 100 Mz) 6,19 (1H, d, J = 2,3 Hz) e 5,59 (1H, d, J = 2,3 Hz) esometilene, 4,48 (1H, q, J = 6,7 Hz) H lattonico, 2,65-3,02 (2H, m), 1,67 (3H, s) metile vinilico, 1,09 (3H, s) metile terziario.

Bioattività: citotossica verso culture di cellule di carcinoma epidermoide umano KB;  $ED_{50} = 1,2-12 \mu g/ml$ .



## X. - DIIDRODIPLOFILLINA [61]



$C_{15}H_{22}O_2$  PM = 234.

Estratta da *Diplophyllum albicans* e *Diplophyllum taxifolium*.

D. C. =  $\Delta\epsilon_{250} = -0,44$ ,  $\Delta\epsilon_{227} = -0,70$ ,  $\Delta\epsilon_{209} = +2,48$  (olefina  $\pi \rightarrow \pi^*$ )  
(12 mM, MeOH).

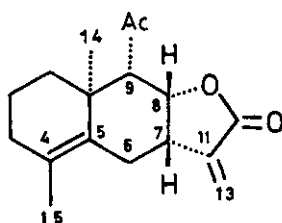
I. R. = ( $\nu_{\text{Max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ , film) 1775 ( $\gamma$ -lattone), 1460, 1450, 1285, 1163, 954, 890, 870, 750.

M. S. = (m/e) 234,16 ( $M^+$ ).

$^1\text{H-NMR}$  = ( $\delta$  ppm,  $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) 4,43 (1H, m) H lattonico, 2,2-3,0 (3H, m), 1,67 (3H, s) metile vinilico, 1,22 (3H, d,  $J = 7,2$  Hz) metile secondario, 1,13 (3H, s) metile terziario.

Bioattività: citotossica verso colture di cellule del carcinoma epidermoide umano KB;  $\text{ED}_{50} = 5 \mu\text{g/ml}$ .

## XI. - ACETOSSI DIPLOFILLINA [62]



$C_{17}H_{22}O_4$ , PM = 290, p. f. = 92-95 °C,  $[\alpha]_D = +132^\circ$ .

Estratta da *Diplophyllum albicans* e *Diplophyllum taxifolium*.

D. C. = (nm, MeOH),  $\Delta\epsilon_{266} = +2,57$ ,  $\Delta\epsilon_{234} = -4,23$ ,  $\Delta\epsilon_{211} = 3,76$ ,  $\Delta\epsilon_{195} = +8,9$ .

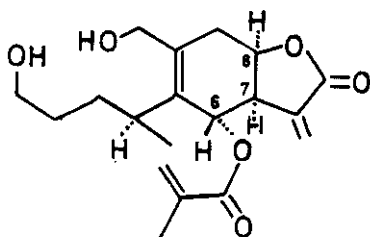
I. R. = ( $\nu_{\text{Max.}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) 1770 ( $\gamma$ -lattone), 1750 (acetossile), 1663, 1380, 1373, 1258, 1211, 1123, 1065, 965, 921, 821.

M. S. = (m/e) 290 (1492), 230 (1294), 215 (1074), 123 (105), 91 (554), 43 (168).

$^1\text{H-NMR}$  = ( $\delta\text{ppm}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) 6,27 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz), 5,65 (1H, d,  $J = 2,2$  Hz) esometilene, 5,04 (1H, d,  $J = 9,7$  Hz) C-9, 4,35 (1H,  $J_9 = 10$ ,  $J_7 = 8,4$  Hz) C-8, 3,40 (1H, m), 2,80 (1H, m) C-7, 2,11 (3H, s) acetossi, 1,70 (3H, s) Me vinilico, 1,09 (3H, s) Me terizario.

Bioattività: citotossica verso linee di cellule del carcinoma epidermoide umano (KB).

## XII. - ERIOLANGINA [7, 53, 63, 64, 65]



$C_{20}H_{28}O_6$ , PM = 364, p. f. = 94-96 °C,  $[\alpha]_D^{25} = -91^\circ$  ( $CHCl_3$ ).

Isolata da *Eriophyllum lanatum* Forbes (*Compositae*).

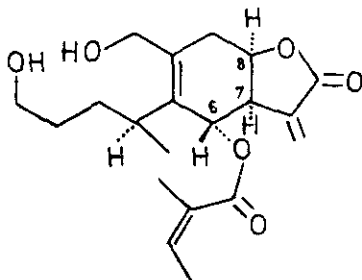
M. S. = (m/e) 365 ( $M^+ + 1$ ).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm) 6,03 (1H, q, J = 8 Hz, angelico).

La struttura è stata elucidata principalmente per via cristallografica X [65].

Bioattività: attivo, *in vivo* contro la leucemia P-388 del topo e *in vitro* contro linee di cellule da carcinoma umano della nasofaringe KB,  $ED_{50} = 10 \mu g/ml$ .

## XIII. - ERIOLANINA [7, 53, 63, 64]



$C_{19}H_{26}O_6$ , PM = 350, p. f. = 126,5–128° C.  $[\alpha]_D^{25} = -9,3^\circ$  ( $CHCl_3$ ).

Isolata da *Eriophyllum lanatum* Forbes (*Compositae*).

I. R. = ( $\nu_{max}$ ,  $cm^{-1}$ ,  $CHCl_3$ ) 3340, 1758 ( $\alpha$ -metilene,  $\gamma$ -lattone), 1710, 1660, 1635.

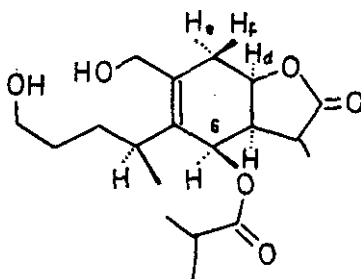
M. S. = (m/e) 351 ( $M^+ - 1$ ).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ , 250 MHz) 6,45 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz) metilene estere metacrilico, 6,08 (1H, s), 6,05 (1H, d,  $J_{bc} = 3$  Hz) eso-metilene lattoneico, 5,61 (1H, s), 5,27 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz), 5,05 (1H, d, t,  $J_{cd} = 8$  Hz,  $J_{de} = 2,5$  Hz,  $J_{ef} = 3$  Hz), 4,23 (2H, ABq,  $J = 12$  Hz,  $\gamma$ - $CH_2 - OH$ ), 3,4–3,6 (3H, m. —  $CH_2 - CH_2 - OH$ , Hc), 2,80 (2H, AM di AMX,  $J_{ef} = 16$  Hz,  $J_{de} = 2,5$  Hz,  $J_{af} = 3$  Hz), 2,77 (1H, m, Ha), 1,93 (3H, s), 1,0–1,4 (4H, m. —  $CH_2 - CH_2 -$ ), 0,90 (3H, d, 7Hz).

La conferma della struttura è stata anche eseguita per analisi cristallografica ai raggi X.

Bioattività: attiva *in vivo* contro la leucemia P-388 del topo, *in vitro* contro cellule KB.  $ED_{50} = 2,5 \mu g/ml$ . Attiva contro il PS del 109–152 % Test/control (T/C).

## XIV. - [ + ] 6-EPIERIANINA [53, 63]



$C_{19}H_{26}O_6$ , PM = 350, p. f. = 124–125 °C.

Isolata da *Eriophyllum lanatum* (Compositae).

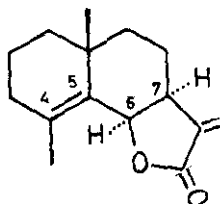
I. R. = ( $\nu_{\text{Max.}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{CHCl}_3$ ) 3620, 3450 (OH), 1762 ( $\gamma$ -lattone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo), 1712 (metacrilato), 1665, 1640.

$^1\text{H-NMR}$  = ( $\delta$  ppm,  $\text{CDCl}_3$ , 250 MHz) 6,36 (1H, d,  $J = 2$  Hz), 6,00 (1H, s), 5,97 (1H, d,  $J_{bc} = 5$  Hz), 5,77 (1H, d,  $J = 2$  Hz), 5,56 (1H, s), 4,85 (1H, q,  $J_{cd} = J_{de} = J_{df} = 8$  Hz), 4,22 (2H, AB, q,  $\Delta\nu_{AB} = 18,4$  Hz,  $J = 12$  Hz,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3,51 (2H, t, —  $\text{CH}_2$  —  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3,25 (1H, m,  $H_a$ ), 2,88 (1H, m,  $H_c$ ), 2,86 (AM di AMX, 2H,  $\Delta\nu_{AM} = 55,7$  Hz,  $J_{ef} = 16$  Hz,  $J_{de} = J_{df} = 8$  Hz), 1,87 (3H, s), 1,20–1,50 (4H, m, —  $\text{CH}_2$  —  $\text{CH}_2$ —), 1,07 (3H, d,  $J = 7$  Hz).

La conferma della struttura è stata eseguita mediante analisi cristallografica X e semi-sintesi stereospecifica.

Bioattività: attiva *in vitro* contro linee di cellule KB;  $\text{ED}_{50} = 1,8$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  e *in vivo* contro la leucemia P-388 del topo in misura maggiore della eriolanina ed eriolangina (XII e XIII); 128–168 % in test control (T/C) a dosi da 8,0 a 16,0 mg/kg in test di PS.

## XV. - [—] FRULLANOLIDE [5, 57, 58, 66]



$C_{15}H_{20}O_2$ , PM = 232, p. f. 76-77 °C (n-esano),  $[\alpha]_D = -113^\circ$  (C 0,155,  $CHCl_3$ ).

Isolato da *Frullania tamarisci*.

I. R. = ( $\nu_{max}$ ,  $cm^{-1}$ ,  $CCl_4$ ) 1767, 1667 ( $\gamma$ -lattone esometilenico), 1641, 1264, 1143, 1122, 1006, 940, 915.

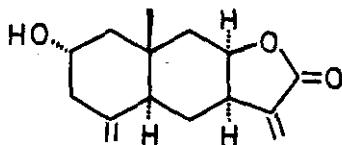
M. S. = (m/e) 232 ( $M^+$ ).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm), 2,98 C-7, 6,17 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz) e 5,58 (1H, d,  $J = 1,5$  Hz) esometilene lattonico, 5,27 (1H, d,  $J = 6$  Hz, C-6), 2,95 (1H, m), 1,75 (3H, s) metile vinilico, 1,08 (3H, s) metile terziario.

Bioattività: attivo *in vivo* contro tumori animali e *in vitro* contro cellule da carcinoma umano della nasofaringe KB. È anche un regolatore della crescita di piante e antimitotico.

Alcuni derivati del Frullanolide isolati da *Frullania dilatata* hanno mostrato una notevole attività allergenica [67].

## XVI. - IVALINA [7, 55, 67]



$C_{15}H_{20}O_3$ , PM = 248, p. f. = 130-132 °C (benzene-etero di petrolio),  $[\alpha]_D = +142^\circ$  (C = 1,03,  $CHCl_3$ ).

Isolata *Iva microcephala* Nutt. e *Iva imbricata* Walt (*Compositae*).

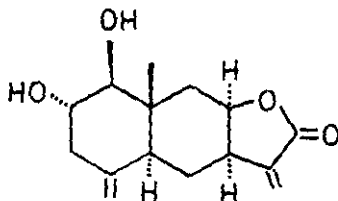
U. V. = ( $\lambda_{Max}$ , nm) 208 ( $\epsilon = 11000$ )  $\gamma$ -lattone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo.

I. R. = ( $\nu_{Max}$ ,  $cm^{-1}$ ) 3700, 3500 (ossidrilie), 1750 ( $\gamma$ -lattone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo), 1600, 1645 (insaturazioni olefiniche).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ , 60 MHz) 6,12-5,61 (2H, d, J = 1,6 cps) esometilene  $\gamma$ -lattone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo, 4,85-4,51 (2H, d, J = 1,5 cps) esometilene non coniugato, 0,9 (3H, s) metile terziario.

Bioattività: attiva verso colture di cellule da carcinoma umano della nasofaringe KB;  $ED_{50} = 0,72 \mu g/ml$ .

## XVII. - IVASPERINA [6, 55, 59]



$C_{15}H_{20}O_4$ , PM = 264, p. f. = 150-151 °C (da etile acetato),  $[\alpha]_D^{23} = +140^\circ$   
(C = 20, MeOH).

Isolato da *Iva asperifolia* (Compositae). Messico.

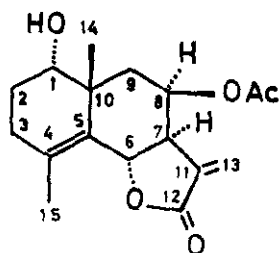
U. V. = ( $\lambda_{Max}$ , nm) 210,5 ( $\epsilon = 7750$ )  $\gamma$ -lattone  $\alpha, \beta$ -insaturo.

I. R. = ( $\nu_{Max}$ ,  $cm^{-1}$ ) 3650, 3450 (OH), 1760 ( $\gamma$ -lattone insaturo), 1660, 1650 (insaturazioni esometileniche).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ , TMS) 6,24 e 5,59 (2H, d,  $J = 1$  cps) esometilene lattoneico, 4,90 (1H, d,  $J = 1,5$  cps) esometilene non coniugato, 4,59 (2H, m) C-8 esometilene non coniugato, 3,5 (2H, m) alcolici secondari, 0,81 (3H, s) metile terziario.

Bioattività: attiva contro colture di cellule KB;  $ED_{50} = 1,6 \mu g/ml$ .



XVIII. -  $\gamma$ -LIRIODENOLIDE [68]

$C_{17}H_{22}O_5$ , PM = 306, p. f. = 179-180 °C,  $[\alpha]_D^{22} = -4^\circ$  (C = 0,252 in MeOH).

Isolato da *Liriodendron tulipifera* - Nord America.

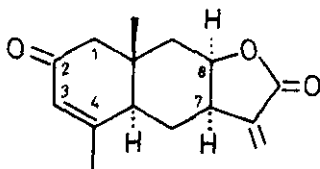
I. R. = ( $\nu_{\text{Max.}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3620, 3520 (OH), 1770 (lattone), 1740, 1675, 1630, 1250, 1210.

M. S. = (m/e) 306 ( $M^+$ ), 289 ( $M - OH$ ), 246 ( $M - MeCOOH$ ).

$^1\text{H-NMR}$  = ( $\delta$  ppm,  $\text{CDCl}_3$ ) 6,25 (1H, d,  $J = 3,3$  Hz, C-13), 5,76 (1H, m, C-8), 5,53 (1H, d,  $J = 3$  Hz, C-13), 5,13 (1H, br d,  $J = 11$  Hz, C-6), 3,57 (1H, br dd,  $J = 8,4$  Hz;  $J = 6,6$  Hz, C-1), 2,90 (1H, dq,  $J = 11,6, 3,3, 3,0, 2,4$ , C-7), 2,06 (3H, s, Ac), 1,91 (3H, br s, OH) scambia con  $\text{D}_2\text{O}$ , 1,25 (3H, s, C-15).

Bioattività: citotossico contro culture di cellule KB;  $\text{ED}_{50} = 4,1$   $\mu\text{g/ml}$ .

## XIX. - PINNAFITIDINA [7, 55, 69, 70]



$C_{15}H_{18}O_3$ , PM = 246, p. f. = 161-164 °C,  $[\alpha]_D = +302^\circ$  (MeOH).

Isolata da *Helenium pinnatifidum* Nutt. (*Compositae*).

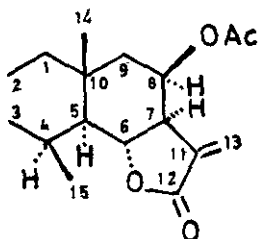
U. V. = ( $\lambda_{Max.}$ , nm) 237,5 ( $\epsilon = 13550$ ) chetone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo disostituito, 210  $\gamma$ -lattone esometilenico.

I. R. = ( $\nu_{Max.}$ ,  $cm^{-1}$ ) 1770  $\gamma$ -lattone esometilenico, 1675 chetone insaturo, 1630 esometilene.

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ , TMS) 6,09, 5,59 (2H, d,  $J = 1,5$  cps) esometilene, 5,83 (1H, s, C-3), 1,95 (3H, s) metile vinilico, 1,00 (3H, s) metile terziario.

Bioattività: attiva contro culture di cellule di carcinoma umano della nasofaringe KB;  $ED_{50} = 1,7$   $\mu g/ml$ .

## XX. - EPITULIPIDIENOLIDE [68]



$C_{17}H_{26}O_4$ , PM = 294, p. f. = 134–135 °C (benzene-esano),  $[\alpha]_D^{22} = +60$   
(C = 0,284, MeOH).

Isolato da *Liriodendron tulipifera* (Magnoliaceae).

U. V. = ( $\lambda_{max}$ , nm) 210 ( $\lg \epsilon = 4,07$ ).

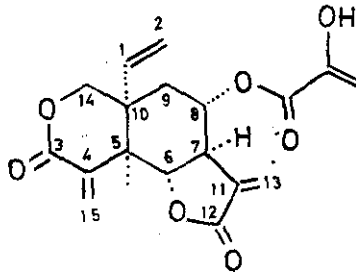
I. R. = ( $\nu_{max}$ ,  $CHCl_3$ ,  $cm^{-1}$ ) 1770, 1740, 1675, 1640, 1210–1260.

M. S. = (m/e) 290 ( $M^+$ ), 248 ( $M-CH_2CO$ ), 230 ( $M-MeCOOH$ ).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ ) 6,18 (1H, d,  $J = 3,2$  Hz, C-13), 5,75 (1H, m)  
C-8, 5,50 (1H, d,  $J = 3$  Hz, C-13), 4,63 (1H, t,  $J = 11,03$ , C-6), 2,83  
(1H, dq,  $J = 11,3, 3,2, 3,0, \sim 3$ , C-7), 2,46 (1H, d,  $J = 11,3$ , C-5),  
2,08 (3H, s, Ac), 1,85 (3H, m, C-14), 1,20 (3H, s, C-15).

Bioattività: irrilevante come citotossico, ma agente inibitorio verso larve di tarme (*Portheria dispar* L.).

## XXI. - VERMODALINA [7. 69]



$C_{19}H_{20}O_7$ , PM = 360, p. f. = olio,  $[\alpha]_D^{24} = +125^\circ$  (C = 1,35,  $CHCl_3$ ).

Isolata da *Vernonia amigdalina* Del. - Etiopia.

U. V. = ( $\lambda_{Max}$ , nm, MeOH) 210 ( $\epsilon = 20000$ ).

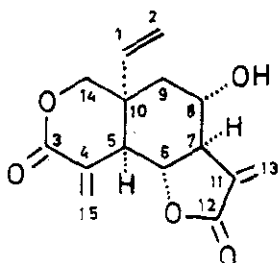
I. R. = ( $\nu_{Max}$ ,  $cm^{-1}$ , KBr) 3424 (OH), 1773 e 1628  $\gamma$ -lattone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo, 1721  $\delta$ -lattone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo, 1261, 1169, 1150, 978, 819.

M. S. = (m/e) 360 ( $M^+$ ), 276, 258, 246, 228, 85, 57, 39.

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ , TMS), 6,74 (1H, d,  $J = 1$  Hz, C-15), 6,00 (2H, br s, C-15 e metilene dell'OH-metacrilato), 6,23 (1H, d,  $J = 3$  Hz, C-13), 5,42 (3H, m, C-1, C-2), 4,59 (1H, d, 14 Hz, C-14), 4,12 (1H, d, 14 Hz, C-14), 4,37 (2H, s,  $CH_2OH$  metacrilico), 2,70 (1H, br s, -OH, scambiabile con  $D_2O$ ).

Bioattività: attiva contro cellule tissutali da carcinoma umano della nasofaringe KB;  $ED_{50} = 1,8 \mu g/ml$ .

## XXII. - VERNOLAPINA [7, 26, 70]



$C_{15}H_{16}O_5$ , PM = 276, p. f. = 179-160 °C,  $[\alpha]_D^{28} = +172^\circ$  (C = 1,04 in acetone).

Estratta da *Vernonia hymenolepis* A. Rich - Etiopia.

U. V. = ( $\lambda_{Max}$ , nm, MeOH) 207 ( $\epsilon = 20300$ )  $\gamma$ -lattone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo.

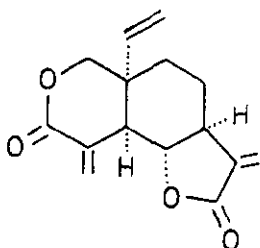
I. R. = ( $\nu_{Max}$ ,  $cm^{-1}$ ,  $CHCl_3$ ) 3390 (OH), 1770 ( $\gamma$ -lattone  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturo), 1623, 1404, 1123, 1050, 980.

M. S. = (m/e) 276 ( $M^+$ ).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ , TMS) 5,4 (3H, m, C-1, C-2), 4,25 (2H, m, C-6, C-8), 2,97 (1H, m, C-5), 2,66 (1H, tt, J = 3, 10,5 Hz, C-7), 1,8 (2H, m, C-9), 6,23 (2H, d, J = 3 Hz, C-13), 6,03 (2H, d, J = 3 Hz, C-13), 4,25 (3H, m, C-14<sup>b</sup>, C-6), 6,72 (2H, d, 1 Hz, C-15<sup>b</sup>), 2,13 (1H, s, OH).

Bioattività: attiva *in vitro* contro colture di cellule KB,  $ED_{50} = 2,0 \mu g/ml$  e contro cellule della leucemia linfoblastica umana CCRF-CEM;  $ID_{50} = 0,034 \mu M$  [26]. Attiva *in vivo* contro il carcinosarcoma intramucolare Walker 256, ha avuto un test control (T/C) del 32%.  $ED_{50} = 0,43 \mu M$  [78]. È risultata inoltre attiva quale inibitrice della crescita del grano (dal 20 all'80%), C = 5-50  $\mu g/ml$  [70].

## XXIII. - [—] DEOSSIVERNOLEPINA [53. 71]



$C_{15}H_{16}O_4$ , PM = 260, p. f. = 169–170 °C.

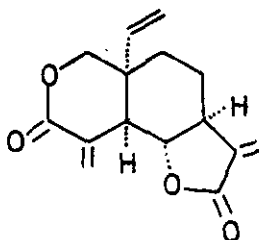
Preparata per semi-sintesi a partire dalla Vernolepina (XXII).

I. R. = ( $\nu_{Max}$ ,  $cm^{-1}$ ,  $CHCl_3$ ) 3015, 2940, 2910, 2850, 1770 ( $\gamma$ -lattone), 1720 ( $\delta$ -lattone), 1670, 1620, 1405, 1340, 1305, 1287, 1250, 1210, 1160, 1130, 1080, 1065, 1010, 990, 950.

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ , 250 MHz) 7,71 (1H, s), 6,17 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz), 5,91 (1H, s), 5,50 (1H, d,  $J = 2,5$  Hz), 5,3–5,8 (8 linee 3H, sistema vinilico), 4,40 (AB, q, 2H,  $J = 12$  Hz,  $\Delta\nu_{AB} = 81,2$  Hz), 3,97 (1H, t,  $J = 11$  Hz), 3,00 (1H, d, 11 Hz).

Bioattività: inibitore della crescita di colture di cellule della leucemia linfoblastica umana CCRF-CEM caratterizzate da una enorme richiesta di cisteina esogena.  $ID_{50} = 0,035 \mu M$ .

## XXIV. - DIIDRODEOSSIVERNOLEPINA [52, 74]



$C_{15}H_{18}O_4$ , PM = 262, p. f. = 146-147 °C.

Preparata per semi-sintesi a partire dalla Vernolepina (XXII).

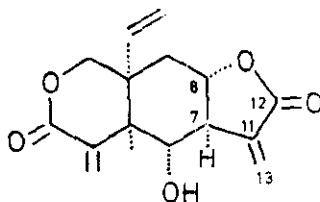
I. R. = ( $\nu_{Max.}$ ,  $cm^{-1}$ ,  $CHCl_3$ ) 1770 ( $\gamma$ -lattone), 1715 ( $\delta$ -lattone), 1670, 1620 (insaturazioni).

M. S. = (m/e) 262 ( $M^+$ ).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm,  $CDCl_3$ ) 6,72 (1H, s), 6,14 (1H, d,  $J = 3$  Hz), 5,88 (1H, s), 5,46 (1H, d, 3 Hz), 4,22 (2H, AB, q,  $J = 13$  Hz,  $\Delta\nu_{AB} = 99,3$  Hz), 3,90 (1H, t,  $J = 11$  Hz), 3,72 (1H, m), 0,94 (3H, t,  $J = 7$  Hz).

Bioattività: inibitore della crescita di colture di cellule della leucemia linfoblastica umana CCRF-CEM:  $ID_{50} = 0,035 \mu M$ .

## XXV. - VERNOMENINA [7, 26]



$C_{15}H_{16}O_5$ , PM = 276, p. f. = amorfa,  $[\alpha]_D = -62^\circ$  (acetone).

Estratta da *Vernonia hymenolepis* A. Rich - Etiopia.

U. V. = ( $\lambda_{max}$ , nm, MeOH) 210 ( $\epsilon = 20000$ ).

I. R. = ( $\nu_{max}$ ,  $cm^{-1}$ ,  $CHCl_3$ ) 3597, 3436 (OH), 3049, 2932, 1776 ( $\gamma$ -lattone), 1727 ( $\delta$ -lattone), 1675, 1626.

M. S. = (m/e) 276 ( $M^+$ ).

$^1H$ -NMR = ( $\delta$  ppm, piridina- $d_5$ , TMS, 60 MHz), 5,5 (2H, m, C-1, C-2), 2,84 (1H, m, C-5), 4,28 (1H, t, J = 10 Hz, C-6), 2,92 (1H, tt, J = 3,10 Hz, C-7), 4,34 (1H, m, C-8), 2,00 (2H, m, C-9), 6,3 (2H, d, J = 3 Hz, C-13), 4,48 (1H, d, J = 11 Hz, C-14<sup>b</sup>), 4,39 (1H, dd, J = 11,2, C-14<sup>b</sup>), 6,87 (1H, d, J = 2 Hz, C-15<sup>b</sup>), 5,9 (1H, br s, -OH).

Bioattività: attiva *in vitro* contro cellule KB;  $ED_{50} = 20 \mu g/ml$ . Attiva *in vivo* contro il carcinoma Walker 256 con T/C 63 (5-8 mg/kg).

Ricevuto il 15 dicembre 1980.

Accettato il 5 gennaio 1981.



## BIBLIOGRAFIA

1. DAL POZZO, D. & DANSI, A. 1979. Biologically active unsaturated  $\gamma$ -lactones, *Boll. Chim. Farm.* **118**: 239-260.
2. SORM, F. & DOLEYS, L. 1965. Guaianolides and germacranolides. *Act. Scient. et Ind.*, Ed. Hermaun, Paris.
3. DEVON, T. K. & SCOTT, A. I. 1972. Handbook of Naturally Occurring Compounds II, Ed. Academic Press.
4. MABRY, T. J. 1978. *Sesquiterpene Lactones*, Ed. University of Tokyo.
5. FISCHER, H. D., FRANK, R. W. & OLIVIER, E. J. 1979. *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe - Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, Ed. Springer Verlag p. 47.
6. PETTIT, G. R. 1977. *Biosynthetic Products for Cancer Chemoterapy*. I. Ed. Plenum Press.
7. PETTIT, G. R. & CRAGG, G. M. 1978. *Biosynthetic Products for Cancer Chemotherapy*. II, Ed. Plenum Press.
8. HAYNES, L. J. 1948. Physiologically active unsaturated lactones, *Quart. Rev.* **2**: 46-62.
9. RAO, Y. S. 1976. Recent advances in the chemistry of unsaturated lactones. *Chem. Rev.* **76**: 625-649.
10. RAO, Y. S. 1964. Chemistry of Butenolides, *Chem. Rev.* **64**: 353-380.
11. TSCHESCHE, R., KAMMERER, F. G. & WULFF, G. 1969. Über die Struktur der Antibiotisch Aktiven Substanzen der Tulpe (*Tulipa gesneziana* L.). *Chem. Ber.* **102**: 2057-2063.
12. MARINI BETTOLO, G. B. 1974. Principi attivi delle Piante Superiori a Proprietà Antitumorale. *Rev. Insit. Antib. (Recife)*, **14**: 51-71.
13. NORMAN, J. O., JOHNSON, J. H., MOLLENHAUER, H. H. & MEDA, S. M. 1976. Effects of Sesquiterpene Lactones on the Growth of *Bacillus thuringiensis*. *Antimicr. Agents Chemoth.* **9**, 535-548.
14. HJORTH, N., ROED-PETERSEN, R. & THOMSEN, K. 1976. Airborne contact dermatitis from compositae oleoresins simulating photodermatitis, *Brit. J. Dermat.* **95**: 613-621.
15. MITCHELL, J. C., DUPUIS, G. & GEISSMAN, T. A. 1972. Additional allergenic sesquiterpene lactones and immunological specificity of compositae, Liverworts and Lichens. *Brit. J. Dermat.* **87**: 235-242.
16. VALDES, R. & CORDOBA, F. 1975. Effect of zexbrevins A and B. Two new sesquiterpene lactones, on the immune response of mice. *Ag. Act.* **5** (1): 64-69.
17. BAKER, P. M., FORTES, C. C. & GAZZINELLI, G. 1972. Chemoprophylactic agents in schistosomiasis: eremantine, costunolide,  $\gamma$ -Cyclocostunolide and Bisabol. *J. Pharm. Pharmacol.* **24**: 853-860.
18. TSCHESCHE, T., KAMMERER, F. J. & WULFF, G. 1968. Über die Antibiotisch Wirksamen Substanzen der Tulpe (*Tulipa Gesneriana*), *Tetr. Lett.*: 701-707.
19. HERZ, W. 1977. Biogenetic aspects of sesquiterpene lactone chemistry, *Israel J. Chem.*, **16**: 32-49.
20. KUPCHAN, S. M. 1972. Recent advances in the chemistry of tumor inhibitors of plant origin, *Izv. Otd. Khim. Nauki, Bulg. Akad. Nauk.*, **5** (2): 325-331.
21. KUPCHAN, S. M., DESSERTINE, A. L., BLAYLOCK, B. T. & BRYAN, R. F. 1974. Isolation and structural elucidation of allamandin, an antileukemic iridoid lactone from *Allamanda cathartica*. *J. Org. Chem.* **39**: 2477-2483.

22. KUPCHAN, S. M., GIACOBBE, T. J., KRULL, I. S., THOMAS, A. M., EAKIN, M. A. & FESSLER, D. C. 1970. Reaction of endocyclic  $\alpha, \beta$ -unsaturated  $\gamma$ -lactones with thiols. *J. Org. Chem.* **35**: 3539-3546.
23. KUPCHAN, S. M., EAKIN, M. A. & THOMAS, A. M. 1971. Tumor inhibitors 69. Structure-cytotoxicity relationships among the sesquiterpene lactones. *J. Med. Chem.* **14**: 1147-1162.
24. KUO-HSINANG, L. 1973. Antitumor agents V: Effect of epoxidation on cytotoxicity of elenalin-related derivatives. *J. Pharm. Sci.* **62**: 1028-1033.
25. HANSON, R. L., LARDY, H. A., & KUPCHAN, S. M. 1970. Inhibition of phosphofructokinase by quinone methide and  $\alpha$ -methylene lactone tumor inhibitors. *Science*. **168**: 378-375.
26. KUPCHAN, S. M., HEMINGWAY, R. J., WERNER, D. & KARIM, A. 1969. Tumor inhibitors. XLVI. Vernolepin, a novel sesquiterpene dilactone tumor inhibitor from *Vernonia hymenolepis* A. Rich. *J. Org. Chem.* **34**: 3903-3909.
27. CAVALLITO, C. J. & HASKELL, T. H. 1945. Action of antibiotics—reaction of unsaturated lactones with cysteine and related compounds, *J. Amer. Chem. Soc.* **67**: 1991-2011.
28. JONES, J. B. & YOUNG, J. M. 1968. Carcinogenicity of lactones. III. The reactions of unsaturated  $\gamma$ -lactones with L-cysteine. *J. Med. Chem.* **11**: 1176-1187.
29. FUJICA, E. & NAGAO, Y. 1977. Tumor inhibitors having potential activity for interaction with mercapto enzymes and for coenzymes. *Bioorg. Chem.* **6**: 287-309.
30. KUPCHAN, S. M., FUJICA, T., MARUYANA, M., BRITTON, R. W. 1973. The synthesis of 16 (R)- or 16 (S)-Methylprostaglandins. *J. Org. Chem.* **38**: 1250-1261.
31. TROUCHE, P., BASTIDE, P., CLUZEL, R. & COQUELET, J. 1971. *J. Sci. Med.* **2**: 35.
32. MONCRIEF, W. J., & HELLER, K. S. 1967. Acylation: A proposed mechanism of action for various oncolytic agents based on model chemical systems, *Cancer Res.* **27**: part. 1: 1500-1528.
33. HLADON, B., DROZDZ, B., HOLUB, M. & BOBKIEWICZ, T. 1975. Sesquiterpene lactones. XVI. In vitro studies on cytotoxic properties of sesquiterpene lactones in tissue cultures of human and animal malignant cells. *Arch. Imm. Ther. Exper.* **23**: 845-860.
34. JOUNATHAN, E. S., PAETKAU, V., & LARDY, H. A., 1968. Rabbit muscle phosphofructokinase reactivity and function of thiol groups. *J. Biol. Chem.* **243**: 1603-1621.
35. ROSOWSKY, A., PAPATHANASOPOULOS, N., LAZARUS, H., FOLEY, G. F., & MODEST, E. J. 1974. Cysteine scavengers. 2. Synthetic  $\alpha$ -methylenebutyrolactones as potential tumor inhibitors. *J. Med. Chem.* **17**: 672-679.
36. HALL, I. H., KUO-HSIUNG, L., ENG-CHUN, M., STORNES, C. O. & WADDEL, T. G. 1977. Antitumor agents. 21. A proposed mechanism for inhibition of cancer growth by tenulin and helenalin and related cyclopentenones. *J. Med. Chem.* **20**: 333-344.
37. DAL POZZO, A., DANSI, A. & BIASSONI, M. 1979.  $\alpha, \beta$ -unsaturated  $\gamma$ -lactones correlations between lipophilicity and biological activity. *Arzneim. Forsch.* (in press).
38. LIEN, E. J., HANSCH, C., & ANDERSON, S. M. 1968. Structure-activity correlation for antibacterial agents. *J. Med. Chem.* **11**: 430-448.
39. HANSCH, C. 1968. The use of substituent constants in drug modification. *II Farmaco Ed. Sci.* **23**: 293-330.
40. KUBINYI, H. 1977. Quantitative structure-activity relationships. 7. The bilinear model a new model for nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character. *J. Med. Chem.* **20**: 625-636.

41. KUO-HSIUNG, L., HIBUKA, I., RONG-YANG, W. & GEISSMAN, T. A. 1977. Structure-antimicrobial activity relationship among the sesquiterpene lactones and related compounds. *Phytochem.* **16**: 1177-1189.
42. KUO-HSIUNG, L., HALL, I. H., ENG-CHUN, M., STARNES, C. O. & WODDEL, T. G. 1977. Sesquiterpene antitumor agents. Inhibitors of cellular metabolism. *Science.* **196**: 533-540.
43. ENG-SHANG, H., KUO-HSIUNG, L., PIANTADOSI, C., GEISSMAN, T. A. & PAGANO, J. S. 1972. Rapid microtiter method for cytotoxicity screening. *J. Pharm. Sci.* **61**: 1961-1967.
44. HLADON, B. & CHODERA, A. 1975. Sesquiterpene lactones. XVII. Cytostatic and pharmacological activity. *Arch. Imm. Ther. Exper.* **23**: 857-869.
45. KUO-HSIUNG, L., MECK, R. & PIANTADOSI, C. 1973. Antitumor agents. 4. Cytotoxicity and in vivo activity of helenalin esters and related derivatives. *J. Med. Chem.* **16**: 299-308.
46. Cancer Chemotherapy National Service Center. 1962. Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems. *Cancer Chemother. Rep.* **25**: 1-56.
47. GERAN, R. I., GREENBERG, N. H., MACDONALD, M. M., SCHUMACHER, A. M. & ABBOTT, B. J. 1972. Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems (third edition). *Cancer Chemoter. Rep.* **3**: 1-88.
48. KING, M. L., WANG, C. T., CHANG, C. F., HSU, H. M., WANG, S. J., HARTWELL, J. D. & ABBOTT, B. J. 1974. Screening study on Taiwan plants for antitumor activities. *Cancer Chemother. Rep.*, Part. 2, 4, n. 3, 1-5.
49. ABBOTT, B. J. 1976. Bioassay of plants extracts for anticancer activity. *Cancer Treatment Rep.* **60**, 1007-1010.
50. SONTAG, J. M., PAGE, N. P. & SAFFIOTTI, U. 1976. Guidelines for carcinogen bioassay in Small Rodents, Carcinogenesis Technical Report Series, n. 1: 1-65.
51. HOWIE, G. A., STAMOS, I. K. & CASSADY, J. M. 1976. Potential antitumor agents. Synthesis of bifunctional  $\alpha$ -methylene- $\gamma$ -butirolactones. *J. Med. Chem.* **19**: 309.
52. GRIECO, P. A., NOGUEZ, J. A. & MASAKI, Y. 1977. ( $\pm$ )-Deoxyvernolepin. A Cytotoxic vernolepin prototype. *J. Org. Chem.* **42**: 495.
53. GRIECO, P. A., OGURI, T., GILMAN, S., DE TITTA, G. T. 1978. Total synthesis of ( $\pm$ )-eriolanin. *J. Amer. Chem. Soc.* **100**: 1616.
54. MARSHALL, J. A. & COHEN, N. 1964. The structure of alantolactone. *J. Org. Chem.* **29**: 3727-3734.
55. HARTWELL, J. L. & ABBOTT, B. J. 1969. Antineoplastic principles in plants: recent developments in the field., *Adv. Pharmacol. Chemother.*, **7**: 117-159.
56. MEHRA, M. M., DESHPONDE, K. G., GHATGE, B. B., & BHATTACHARIYA, S. C. 1967. Transformation products of alantolactones., *Tetrahedron* **23**: 2469-2480.
57. GREENE, A. E., MULLER, J. C., OURISSON, G. 1974. Conversions of  $\alpha$ -methyl to  $\alpha$ -methylene  $\gamma$ -lactones. Synthesis of two allergenic sesquiterpene lactones, ( $-$ )-frullanolide and ( $+$ )-arbusculin B. *J. Org. Chem.*, **39**: 187-196.
58. ASAKAWA, Y., MULLER, J. C., OURISSON, G. & FOUSSERAU, J. 1976. New sesquiterpene lactones of *Frullania* (*Hepaticae*). Isolation, structures, allergenic properties., *Bull. Soc. Chim. Fr.* **2**: 1465-1482.
59. HERZ, W. & VISWANATHAN, N. 1964. Constituents of *Iva* species. II. The structures of asperilin and ivasperin, two new sesquiterpene lactones. *J. Org. Chem.* **29**: 1021-1033.
60. HARTWELL, J. L. & ABBOTT, B. J. 1969. Antineoplastic principles in plants: recent developments in the field., *Adv. Pharmacol. Chemother.* **7**: 117-160.

61. OHTA, Y., ANDERSEN, N. H. & LIU, C. B. 1977. Sesquiterpene constituents of two liverworts of genus *Diplophyllum*. Novel eudesmanolides and cytotoxicity studies for enantiomeric methylene lactones. *Tetrahedron*. **33**: 617-625.
62. KUPCHAN, M. S., BAXTER, R. L., CHIANG, C. K., GILMORE, C. J. & BRYAN, R. F. 1973. Eriolangin and eriolanin, novel antileukemic seco-eudesmanolides from *Eriophyllum lanatum*. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 842-845.
63. KUPCHAN, M. S., EAKIN, M. A., & THOMAS, A. M. 1971. Tumor Inhibitors. 69. Structure-Cytotoxicity Relationships Among the Sesquiterpene Lactones. *J. Med. Chem.* **19**: 1147-1159.
64. BRYAN, R. F., GILMORE, C. J. 1975. Crystal and molecular structures of dehydro-eriolangin in a cocrystalline mixture. *Acta Cryst., Sect. B*. **31**: 2213-2220.
65. PEROLD, G. W., MULLER, J. C. & OURISSON, G. 1972. Structure d'une lactone allergisante: le frullanolide-I. *Tetrahedron*. **28**: 5797-5606.
66. HERZ, W. & HOGENHAUER, G. 1962. Ivalin, a new sesquiterpene lactone. *J. Org. Chem.* **27**: 905-912.
67. NISONOFF, A., SHAW, A. R. & PRESSMAN, D. 1959. The nitro group as a determinant of immunologic specificity. *J. Amer. Chem. Soc.* **81**: 1418-1426.
68. HERZ, W., MITRA, R. B., & RABINDRAN, K. 1962. Constituents of *Helenium* species. XI. The structure of pinnafitidin. *J. Org. Chem.* **15**: 4041-4045.
69. KUPCHAN, M. S., HEMINGWAY, R. J., KARIM, A. & DIETER, W. 1969. Tumor inhibitors. XLVII. Vernodalin and veromigdin, two new cytotoxic sesquiterpene lactones from *Vernonia amygdalina* Del. *J. Org. Chem.* **34**: 3908-3919.
70. HEMINGWAY, R. J., KUPCHAN, M. S. 1968. Vernolepin: A new, reversible plant growth inhibitor. *Science*. **161**: 789-796.
71. GRIECO, P. A., NOGUEZ, J. A. & MASAKI, Y. 1975. Total synthesis of deoxyvernolepin. *Tetr. Lett.*: 4213-4215.
72. GRIECO, P. A., NOGUEZ, J. A., MASAKI, Y. 1977. Synthesis of mono- and bifunctional  $\alpha$ -methylene lactone systems as potential tumor inhibitors. *J. Med. Chem.* **20**: 71-90