

Королева Алла Альбертовна

**Химические трансформации бетулапrenoлов
и полипrenoлов хвойных как основа синтеза соединений
с прогнозируемой физиологической активностью**

02.00.03 – Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Иваново 2007

Работа выполнена в лаборатории лесохимии Института химии Коми научного центра
Уральского отделения Российской академии Наук.

Научный руководитель:

старший научный сотрудник,

кандидат химических наук

Карманова Л.П.

Официальные оппоненты:

Ведущая организация:

Защита состоится _____ на заседании диссертационного совета Д 212.063.01 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ивановский государственный химико-технологический университет», по адресу: 153000, г. Иваново, пр. Ф.Энгельса, д. 7.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ивановский государственный химико-технологический университет», по адресу: 153000, г. Иваново, пр. Ф.Энгельса, д. 7.

Автореферат разослан «___» _____ 2007 г.

Ученый секретарь диссертационного Совета

доктор химических наук

Хелевина О.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Необходимость разработки новых путей синтеза производных полиизопреноидов обусловлена их ролью в процессе жизнедеятельности живых организмов. Полиизопреноиды (PPre) – природные низкомолекулярные биорегуляторы. Они входят в состав клеточных мембран тканей практически всех биологических объектов, где осуществляют транспорт гидрофильных частиц через клеточную мембрану в ходе биосинтеза полисахаридов, гликопротеинов и подобных им углеводсодержащих полимеров. PPre служат «липидным якорем» для локализации молекулы на мембране. Полиизопреноиды содержатся в тканях растений и млекопитающих в виде свободных спиртов и производных различных классов соединений. 5% белков человеческого организма имеет фарнезилный или геранильный фрагмент. Кофермент Q, пластохинон, менахинон, хлорофилл являются пренилированными ароматическими соединениями. Биологические функции, которые выполняют PPre и их производные обуславливают широкий круг их физиологической активности. Отмечены иммуномодулирующие, противовоспалительные, противоязвенные, гепатопротекторные и антиканцерогенные свойства этих соединений при низкой токсичности ($LD_{50} \sim 4000$ мг/кг). Известно, что наличие изопреноидного заместителя увеличивает биологическую активность некоторых веществ ароматического ряда. Поэтому введение PPre в молекулу БАВ для усиления его активности видится перспективной и актуальной задачей.

Ароматические соединения и их производные широко применяются в медицинской практике. В частности, хлорин e_6 является действующим веществом в медицинских препаратах – фотосенсибилизаторов (ФС) для фотодинамической терапии (ФДТ) раковых заболеваний. Различные производные фенола проявляют антиоксидантные и радиопротекторные свойства. Структура противоракового препарата, способного ингибировать множественную лекарственную устойчивость (МЛУ), «SDB-этилендиамин», представляет собой ароматическое производное этилендиамина. Полиизопреноидный фрагмент, включенный в структуру этих ароматических соединений, может послужить вектором для обеспечения доставки молекулы к клеткам-мишеням.

Долихолы (Dol) являются важнейшими производными полипrenoлов, выполняющие в клетках тканей млекопитающих функции, подобные тем, которые PPre выполняют в растительных клетках. Сходство структур Dol и PPre позволяет осуществить переход от полипrenoлов к долихолам селективным восстановлением двойной связи в аллильном положении полипrenoла. Подбор восстанавливающей системы учитывал доступность реагента, возможность проведения реакции в мягких условиях и особенности восстанавливаемого субстрата.

Необходимые для исследования PPre возможно получить либо прямым синтезом, либо выделить их из природных источников. Прямой синтез соединений такого рода сопряжен со сложностями стереохимического контроля. Извлечение PPre из природного сырья предполагает выбор объекта экстракции и разработку методики извлечения, позволяющие рационально решить задачу получения исходных реагентов для синтеза и исследования производных PPre. В частности, перспективными источниками полиизопреноидов являются древесина и древесная зелень хвойных и лиственных пород деревьев, где содержание PPre составляет от 0,001 до 2% от веса а.с.с. Эффективность метода извлечения целевых компонентов из многокомпонентных смесей должна определяться селективностью экстракции.

Уникальная биологическая роль полиизопреноидов в процессе жизнедеятельности живых организмов определяет актуальность исследования этого класса соединений, разработку методов эффективного селективного извлечения их из растительного сырья, синтеза на их основе производных с известной и новой физиологической активностью.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является проведение трансформаций растительных полипrenoлов для получения аналогов природных соединений и новых производных с физиологической активностью.

- Синтез амида хлорина e_6 с полипренильным заместителем по реакции нуклеофильного замещения при 13 атоме углерода метилфеофорбида (а).

- Алкилирование диарилзамещенного этилендиамина с использованием реакции восстановительного аминирования.

- Алкилирование фенола полипrenoлами в присутствии фенолята алюминия.

- Проведение 1,4-сопряженного восстановления α,β -ненасыщенных карбонильных терпеновых соединений и аллильных спиртов комплексными гидридами на модельных соединениях. Получение долихола из полипреналя и полипrenoла.

- Разработка новых методов извлечения полипrenoлов и других терпеноидов из растительного сырья.

- Установление структуры выделенных и синтезированных соединений.

Научная новизна и практическая значимость работы. Впервые синтезирован амид хлорина e_6 , содержащий полиизопренильный фрагмент. Полученное соединение является потенциальным ФС для ФДТ раковых заболеваний. В результате реакции восстановительного аминирования получен N,N'-бис(3,4-диметоксибензил)-N-полипренил-N'-этилендиамин, аналог ингибитора множественной лекарственной устойчивости «SDB-этилендиамина». Алкилированием фенолов изопреноидными аллильными спиртами в присутствии органоалюминиевых катализаторов синтезированы *орто*- и *пара*-замещенные пренилфенолы, которые по данным скрининга биологической активности, с большой долей вероятности могут проявить антиоксидантные и радиопротекторные свойства. Селективным восстановлением аллильной двойной связи полипrenoлов и сопряженной карбонильной системы полипреналей комплексными гидридами металлов в присутствии кислот Льюиса синтезированы долихолы. Долихолы участвуют в процессах жизнедеятельности клеток тканей млекопитающих подобно полипrenoлам, которые выполняют подобные функции в клетках растений. Модернизирован метод экстракции нейтральных липидов и полипrenoлов из сульфатного мыла (СМ) (вторичного продукта переработки древесины березы). Впервые разработан и запатентован метод эмульсионной экстракции нейтральных веществ и полипrenoлов водными растворами оснований из древесной зелени хвойных пород. Определены факторы, влияющие на эффективность извлечения нейтральных компонентов и полипrenoлов из древесной зелени ели и пихты.

Публикации и апробация работы. Основные положения диссертационной работы были представлены на 12 международных и российских конференциях: 1-ом, 2-ом, 3-ем Совещаниях «Лесохимия и органический синтез», Сыктывкар 1994, 1996; 1998; Международной конференции по натуральным продуктам и физиологически-активным веществам, Новосибирск, 1998; I Всероссийской конференции «Химия и технология растительного сырья», Сыктывкар, 2000; XIX Европейской конференции по изопреноидам, Польша 2001; II Всероссийской конференции «Химия и технология растительного сырья», Казань, 2002; IX Международной конференции по химии порфиринов и их аналогов, Суздаль 2003; III Международной конференции «Экстракция органических соединений», Воронеж 2005; IV Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительного сырья», Сыктывкар, 2006; II Международной конференции «Химия, структура и функции биомолекул», Минск, 2006.

По теме работы опубликовано 19 печатных работ, в том числе 4 патента РФ, 4 статьи, тезисы 11 докладов на международных и всероссийских научных конференциях.

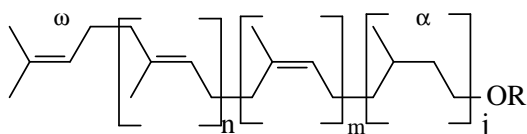
Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на ___ страницах, содержит ___ рисунков, ___ таблиц и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы, который включает ___ наименований. Первая глава представляет собой

литературный обзор, где обобщены данные о содержании полипренолов в различных природных источниках, биологической активности, способах их выделения из растительного сырья и химической модификации. Вторая глава посвящена изложению и обсуждению результатов исследований. В третьей главе приведены экспериментальные данные.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Трансформация растительных полиизопренидов

Полиизопреноиды – алифатические полиненасыщенные терпеновые соединения, сформированные из стереоспецифической «голова-к-хвосту» комбинации изопреновых единиц:



$n=2, m=3-5, j=0$ (бетулапренолы)

$n=2, m=11-15, j=0$ (ДЗ ели);

$n=2, m=12-16, j=0$ (ДЗ пихты)

$n=2, m=12-20, j=1$ (долихолы)

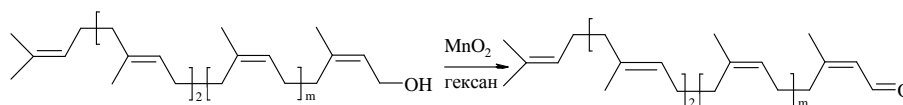
Для химических трансформаций использовали полипренолы, выделенные из ДЗ ели и пихты и из сульфатного мыла. По данным ВЭЖХ, все выделенные полипренолы имели чистоту 95-97%. Для полипренолов из сульфатного мыла (бетулапренолов) препаративной ВЭЖХ и масс-спектроскопией установлено процентное соотношение изопренологов по длине цепи (I, количество изопреновых звеньев), которое составило 6:7:8:9:10-11=1:34:49:13:3% соответственно. В смеси гомологов преобладали полимеры с длиной цепи 7 и 8 изопреновых звеньев (полипренолы $C_{35}-C_{40}$). PPre из ДЗ ели представляют собой сумму изопренологов $C_{75}-C_{85}$, PPre из ДЗ пихты – $C_{75}-C_{85}$.

1.1. Синтез аминопроизводных полипренолов

Окисление полипренолов до полипреналей

Для трансформации полиизопренильных спиртов в аминопроизводные необходимо предварительно окислить исходные полипренолы до альдегидов. При этом образуется нуклеофильный реакционный центр на карбонильном атоме углерода.

Окисление полипренолов **1**, **2** и **3** проводили свежеприготовленным MnO_2 кипячением в гексане. Выход проипреналей **4**, **5** и **6** при этом составлял 50-70%.



1 ($m = 3-5$)

4 ($m = 3-5$)

2 ($m = 11-15$)

5 ($m = 11-15$)

3 ($m = 12-16$)

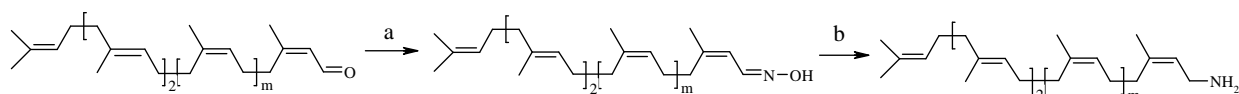
6 ($m = 12-16$)

Наиболее характерной спектральной характеристикой сопряженного карбонильного соединения является наличие полосы валентных колебаний связи $C=O$ в ИК-спектре в области $\sim 1680-1690\text{ см}^{-1}$.

Синтез полипрениламина

Конденсацию карбонильных соединений с производными аммиака проводят, как правило, в присутствии электрофильного катализатора, роль которого сводится к образованию координационной связи с карбонильной группой, вследствие чего облегчается атака этой группы нуклеофилом. Значение pH, при котором скорость реакции будет максимальной, зависит от основности нуклеофильного азота и, следовательно, от

природы реагента. В частности, гидроксилламин представляет собой сильное основание, поэтому реакция будет идти лучше в растворе с невысокой кислотностью. Реакцию взаимодействия полипреналей с солянокислым гидроксилламином проводили без катализатора. Для нейтрализации соляной кислоты добавляли Na_2CO_3 . Оксим восстанавливали LiAlH_4 до полипрениламина. Выход аминов составил 54 %.



4 (m= 3-5)

5 (m= 11-15)

6 (m= 12-16)

7 (m= 3-5)

8 (m= 3-5)

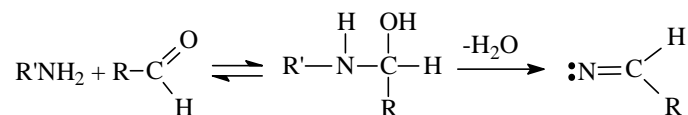
9 (m= 3-5)

a – $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, Na_2CO_3 ; b – LiAlH_4 , абс. диэт. эфир.

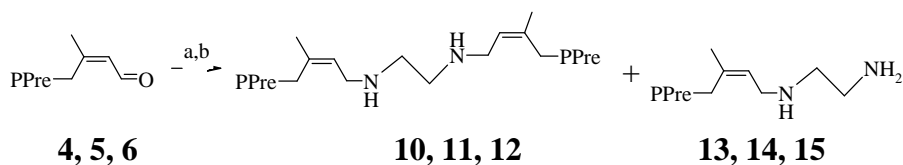
В ИК спектре полипрениламина наблюдаются две полосы поглощения валентных колебаний в области 3440 и 3380 см^{-1} , характерных для первичных аминов и деформационных – в области 1576 см^{-1} N-H связи и валентных колебаний C-N связи в области 1250 см^{-1} . В ^1H -ЯМР спектре наблюдается смещение сигналов метиленовых протонов атома C-1 в сильное поле (3.26 м.д.), также тенденция прослеживается в ^{13}C -ЯМР спектре, где сигнал атома C-1 появляется при 37.57 м.д.

Синтез N,N' -бисдиполипренилэтилендиамина и N -полипренилэтилендиамина

Взаимодействие карбонильных соединений с первичными и вторичными аминами может проходить через стадию образования карбиноламинов и последующей дегидратацией до иминов (оснований Шиффа), которые сравнительно легко восстанавливаются до соответствующих аминов. Реакция проходит по схеме:

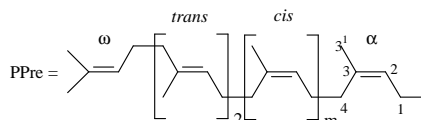


Полипренолы с различной длиной изопреноидной цепи (**1**, **2**, **3**) были окислены свежеприготовленным MnO_2 до соответствующих полипреналей (**4**, **5**, **6**). Затем воздействием этилендиамина, взятым в избытке, получены имины, которые *in situ* восстановили борогидридом натрия до аминов **10-15**.



a – $(\text{NH}_2\text{CH}_2)_2$, абс. бензол; b – NaBH_4 , этанол.

Для бетулапренолов m=3-5, для полипренолов из ДЗ или m=11-15, из ДЗ - пихты m=12-16.



В результате конденсации полипреналей с этилендиамином и последующим восстановлением N,N' -бисдиполипренилиденэтилендиамина и N -полипренилиденэтилендиамина образуется два основных продукта - N,N' -бисдиполипренилэтилендиамин и N -полипренилэтилендиамин.

Соотношение моно- и дизамещенных производных этилендиамина зависит от величины избытка исходного этилендиамина (табл.1). 50-кратный избыток этилендиамина может обеспечить преимущественное образование монозамещенного продукта.

Продукты реакции разделяли адсорбционной колоночной хроматографией системой растворителей хлороформ/метанол. Структуру выделенного монозамещенного N-полипренилэтилендиамина подтвердили спектральными методами. ИК спектр соединения **13**, **14**, **15** характеризуется полосами поглощения валентных колебаний связи N-H в области 3312 см^{-1} , деформационных колебаний связи N-H в области $1576, 884$ и 760 см^{-1} , а также валентных колебаний связи C-N в области 1092 см^{-1} . ^1H -ЯМР спектр содержит сигналы протонов NH и NH_2 в области 1.3 м.д., мультиплеты протонов метиленовых групп этилендиамина – 2.7-2.8 м.д., а также сигнал протонов метиленовой группы α -звена полипренильного фрагмента, связанного с аминогруппой – в области 3.3 м.д.

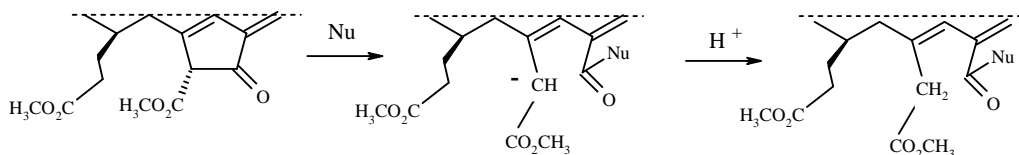
Таблица 1

Избыток $(\text{NH}_2\text{CH}_2)_2$	Соотношение моно-/дизамещенный этилендиамин
3	1/1
25	3,3/1
50	9/1

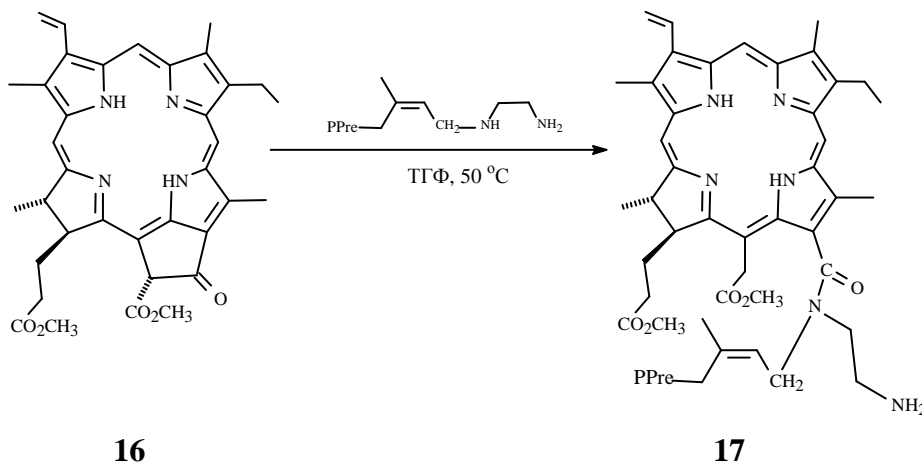
Синтез 13-N-(аминоэтил)-N-(полипренил)-амида-15,17-диметилового эфира хлорина e_6

В результате взаимодействия метилфеофорбида (а) с аминами образуются амиды хлорина e_6 . Реакция нуклеофильного замещения при 13(1) атоме углерода метилфеофорбида(а) происходит с раскрытием экзоцикла E по схеме 1.

Схема 1



Реакция метилфеофорбида (а) **16** с N-полипренилэтилендиамином **13** в ТГФ при 50°C привела к образованию третичного амида хлорина e_6 **17** с выходом 53 % .



Структура 13-N-(аминоэтил)-N-(полипренил)-амид-15,17-диметилового эфира хлорина e_6 **17** была охарактеризована методами ИК- и ^1H -ЯМР спектроскопии. В области 1666 см^{-1} ИК спектра наблюдается полоса валентных колебаний C=O амидной группы. Отсутствие сигнала N-H протонов в области 6.9-7 м.д. ^1H -ЯМР спектра, а также наличие удвоенного набора сигналов α и β метиновых протонов порфиринового цикла в области 9-10 м.д. свидетельствует об образовании третичного амида. В элетронных спектрах поглощения соединения **17** наблюдается пик в области 660 нм.

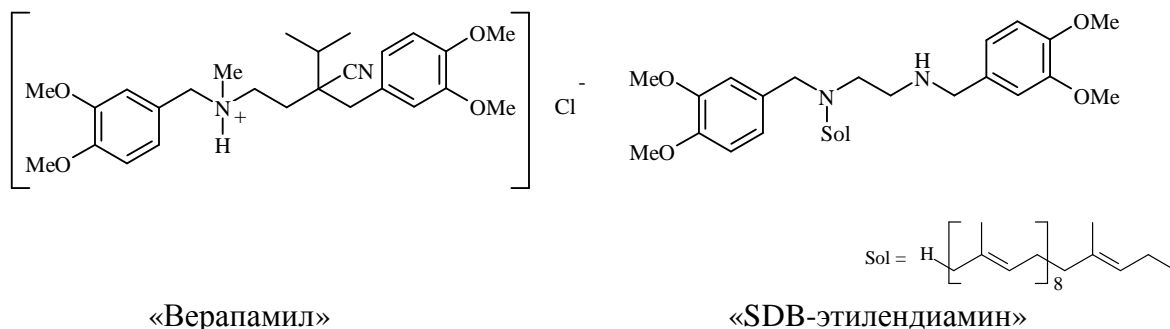
Впервые синтезированный 13-N-(аминоэтил)-N-(полипренил)-амид-15,17-диметилового эфира хлорина e_6 по данным скрининга физиологической активности

является фотосенсибилизатором, радиопротектором. Наличие полипренильного заместителя может послужить вектором для доставки соединения к клеткам-мишеням.

Синтез *N,N'*-Бис(3,4-диметоксибензил)-*N*-полипренил-*N'*-этилендиамина.

При лекарственном лечении опухолей нередко наблюдается снижение эффективности терапии вследствие возникновения множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) раковых клеток. Поэтому в настоящее время ведется интенсивный поиск ингибиторов МЛУ.

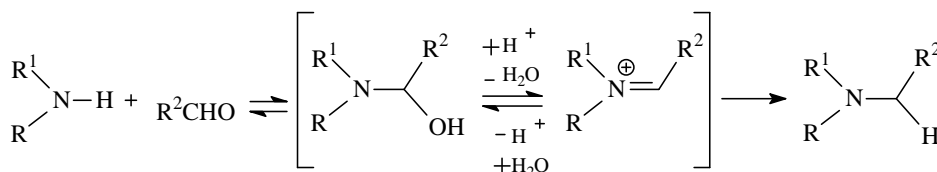
Известно, что аминопроизводные с липофильным («Верапамил») и, в частности, полипренильным заместителем (соланезилэтилендиамин, «SDB-этилендиамин») способны преодолевать МЛУ при терапии раковых заболеваний.



Получение аналогов «SDB-этилендиамина», с полипренильным липофильным заместителем представляется интересной задачей по причине уникального стереохимического строения растительных полипренолов (бетулапренолов), подобного долихолам млекопитающих.

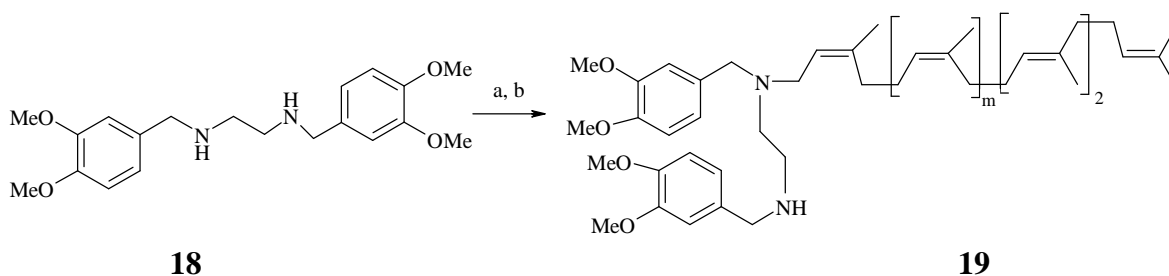
Синтез аналогов SDB-этилендиамина может быть также осуществлен, исходя из *N,N'*-бис[(3,4-диметоксифенил)метил]-1,2-этилендиамина, полученного по известной методике, реакцией восстановительного аминирования. Процесс происходит по механизму (схема 2):

Схема 2



На первой стадии реакции происходит присоединения амина к карбонильному соединению с последующим восстановлением либо самого продукта нуклеофильного присоединения – α -аминоспирта, либо продукта дегидратации последнего – имина.

Процесс восстановительного аминирования полипреналей **4** *N,N'*-бис[(3,4-диметоксифенил) метил]-1,2-этилендиамином проходил в два этапа. Конденсацию амина **18** с карбонильным соединением **4** проводили при 75 °С в абсолютном бензоле в течение 5 часов. Затем, удалив растворитель, восстанавливали образовавшийся промежуточный продукт *in situ* NaBH_4 при комнатной температуре. В результате реакции получили монозамещенное аминопроизводное **19** - *N,N'*-бис(3,4-диметоксибензил)-*N*-полипренил-этилендиамин с выходом 68,8 %.



a – PPreCHO (C₃₀-C₅₅), **4**, абс. бензол, 75°C; NaBH₄, этанол.

Строение полученного соединения **19** подтверждено данными ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР и ИК спектрами. В ИК спектре соединения **19** присутствуют полосы поглощения замещенной ароматической системы – 910, 790 и 766 см⁻¹ - δ (C-H), 1598, 1520 см⁻¹ - ν (C-H), сигналы метоксигруппы – 1266, 1034 см⁻¹ - ν (C-O), сигналы этилендиаминового мостика – 3329 см⁻¹ - ν (N-H), 1250 см⁻¹ - ν (C-N), 1160 см⁻¹ - ν (C-N), а также полосы поглощения, характерные для полипренильного заместителя. В спектре ¹³C-ЯМР наблюдается смещение сигнала протонов метиленовой группы α-звена полипренильного фрагмента, связанного с ароматическим ядром, в сильное поле, в область 46.51 м.д., что указывает на образование связи C-N. Спектр ПМР содержит сигналы протонов этой же группы атомов в области 3.05 м.д.

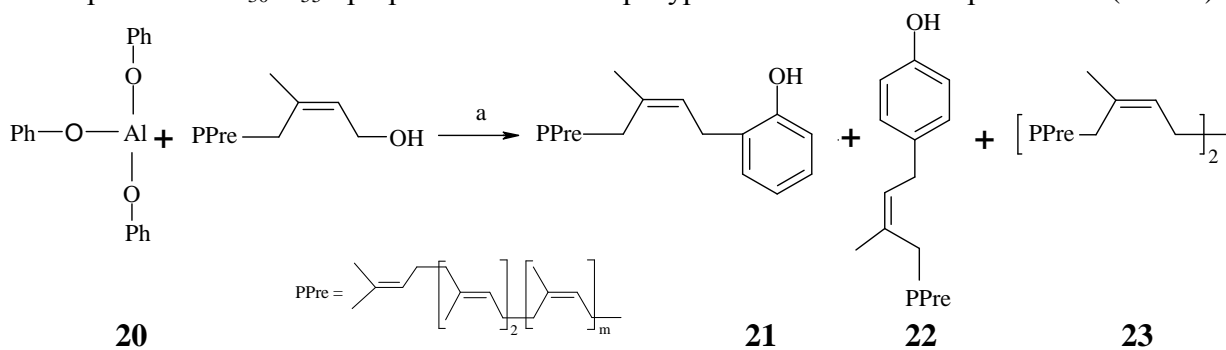
1.2. Алкилирование фенола аллильными спиртами в присутствии фенолята алюминия.

Пренилированные производные ароматических соединений являются составной частью биологических объектов и выполняют функцию регулирования жизненных процессов. Биологическая активность природных пренилфенолов стимулирует разработку методов синтеза их аналогов и подобных им соединений.

В представленной работе предлагается алкилирование фенола терпеновыми алифатическими спиртами в присутствии органоалюминиевых соединений. Выбор данного подхода обусловлен несколькими факторами. Терпеновые алифатические спирты являются составной частью компонентов растительных тканей и могут быть выделены из них в значительных количествах. Кроме того, полипренолы обладают физиологической активностью, что представляет интерес в плане возможной активности конечных продуктов синтеза.

Ранее было показано, что при алкилировании фенола терпеновыми олефинами (камфеном, α-пиненом и дипентеном) фенолят алюминия является *орто*-селективным катализатором.

Фенолят алюминия **20** получали взаимодействием фенола и алюминия при нагревании до 160 °С. Далее проводили *in situ* реакцию алкилирования фенола полипренолами C₃₀-C₅₅ при различных температурах и соотношениях реагентов (табл.2).



a – Δ, (80°C, бензол; 120 130, 140°C без растворителя; 160°C, декан), m = 3-5.

Продуктами реакции алкилирования фенола полипренолами являются *орто*-пренилфенол **21**, *пара*-пренилфенол **22** и продукты полимеризации **23**.

Таблица 2

Алкилирование фенола полипренолами C₃₅-C₅₅

Температура, °С	Растворитель	Конверсия, %	Выход, % от суммы продуктов реакции	
			<i>орто</i> -пренилфенол	<i>пара</i> -пренилфенол
80 ^a	бензол	25	-	-
120 ^a	Без растворителя	78	42	9
130 ^a	Без растворителя	98	40	12
140 ^b	Без растворителя	60	-	-
160 ^a	декан	95	35	5

a – реагентный способ при соотношении (PhO)₃ Al:PPreOH=1:1,

b – каталитический способ при соотношении (PhO)₃ Al:PPreOH=1:10

Исследования показали, что оптимальными условиями образования пренилфенолов можно считать нагрев реакционной смеси без растворителя до 120-130 °С при эквимольном соотношении фенолята алюминия и полипренола. В этом случае наблюдается высокая конверсия и селективное образование *орто*-замещенного полипренилфенола. Проведение реакции при температуре 80 °С в бензоле обеспечило 25% конверсию исходных соединений в продукты реакции, представляющие собой полимеризованные соединения. Нагрев реакционной смеси до 160 °С (реакцию проводили в декане) выгодно изменило ситуацию. При практически полной конверсии произошло селективное *орто*-замещение бензольного кольца. Наблюдалось большее количество полимеризованных продуктов по сравнению с количеством таковых при оптимальных условиях (120-130 °С).

При каталитическом способе алкилирования (соотношение (PhO)₃ Al:PPreOH=1:10) реакция проходила при температуре не ниже 140 °С с преимущественным образованием полимеризованных продуктов.

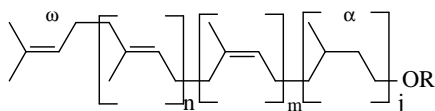
Процесс полимеризации полипренолов является следствием образования в ходе реакции устойчивого аллильного карбокатиона, который имеет склонность к перегруппировкам. Можно предположить, что первоначально образовавшийся полипренильный аллильный катион далее переходит в форму более стабильного третичного катиона. На следующей стадии происходит димеризация.

ИК спектр *орто*-замещенного полипренилфенола содержит полосы поглощения валентных колебаний: связи О-Н в области 3472 см⁻¹, связи С-Н – в области 3044 см⁻¹, связи С-С – в области 1592 и 1494 см⁻¹, относящихся к фенолу, а также сигналы внеплоскостных деформационных колебаний связей С-Н бензольного кольца в области 754 см⁻¹, характерных для *орто*-замещенной ароматической системы. Сигналы полипренильного фрагмента представлены полосами поглощения валентных (1672 см⁻¹) и деформационных (850 см⁻¹) колебаний двойной связи. В ¹H-ЯМР спектре имеется набор сигналов протонов ароматического кольца в области 6.78 и 7.01 м.д., протонов метильных групп полипренола – 1.6, 1.68, и 1.75 м.д., метиновых протонов полиненасыщенного заместителя при двойной связи – 5.1 и 5.33 м.д., а также дублет метиленовых протонов (3.38 м.д.), присоединенных к фенолу в *орто*-положение.

Таким образом, при изучении реакции алкилирования фенола полипренолами в присутствии фенолята алюминия показано, что при температуре 120-130 °С и эквимольном соотношении полипренол/фенолят алюминия образуется преимущественно *орто*-замещенный полипренилфенол, содержание которого достигает 40-42 % от общего количества продуктов реакции при конверсии 78-98 %.

1.3. Восстановление полипренолов

Одним из направлений трансформаций природных полипренолов является получение долихолов, строение которых отличается от строения полипренолов наличием насыщенного α -звена.



$$n=2, m=12-20, j=1$$

долихол

Комплексные гидриды металлов, модифицированные кислотами Льюиса, можно рассматривать в качестве селективных восстановителей аллильной двойной связи α -звена полипренолов или сопряженной двойной связи полипреналей в мягких условиях. Для достижения поставленной задачи проведен ряд экспериментов по гидрированию субстратов, имеющих сопряженную карбонильную группу – цитраль, вербенон, полипреналь C₃₅-C₅₅, и аллильную гидроксильную группу – гераниол, фарнезол, полипренол C₃₅-C₅₅.

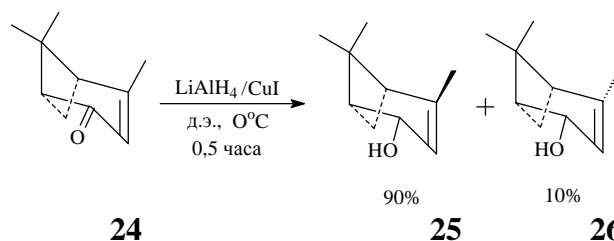
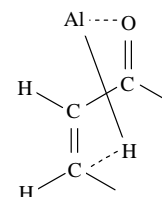
Восстановление сопряженных карбонильных соединений системой LiAlH₄/CuI

Известно, что алюмогидрид лития в большинстве случаев легко восстанавливает двойные связи карбонильной группы. Литературные данные показывают, что возможно сопряженное 1,4-восстановление енонов системой LiAlH₄/CuI при 0°C в ТГФ. Предварительное образование восстанавливающего соединения H₂AlI происходит согласно уравнению:

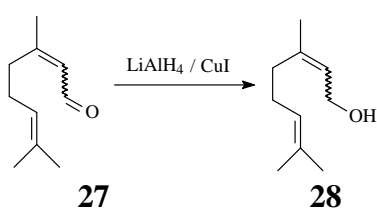


Процесс проходит через шестицентровое переходное состояние, которое может возникнуть при *транс*-конфигурации сопряженной с карбонилем двойной связи.

Взаимодействие вербенона **24** с восстановительной системой LiAlH₄/CuI при 0°C в диэтиловом эфире в течение 0,5 часа при соотношении реагентов LiAlH₄/CuI/вербенон=1/4/1 привело к продуктам 1,2-восстановления – смеси *цис*- и *транс*-вербенолов **25** и **26** в соотношении 9/1 (по данным ГЖХ).



Проведенные нами эксперименты по восстановлению α,β -ненасыщенного альдегида цитраля **27** системой LiAlH₄/CuI в различных реакционных условиях показали, что основным продуктом реакции является гераниол **28**, т.е. также происходит 1,2-восстановление.

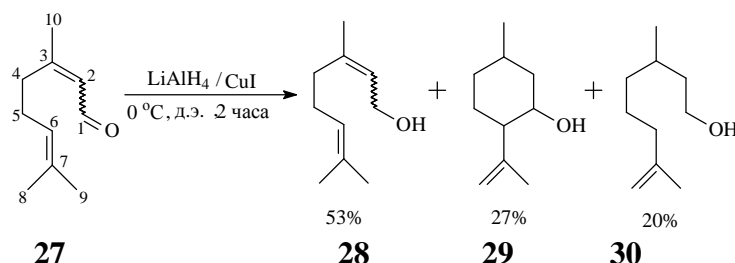


Цитраль	Соотношение реагентов	
	LiAlH ₄	CuI
1	1	2
1	1	4
1	0.75	4
1	1.25	4

Растворители: диэтиловый эфир, ТГФ.
Температура: -15; -7; -2; 0; +2; +7°C.
Время реакции: 0,5 часа.

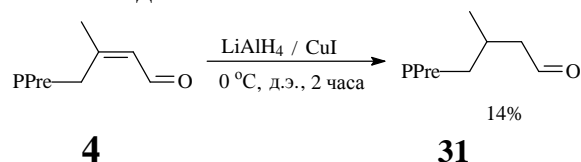
Причиной такого направления процесса может служить плоское строение резонансно-стабилизированного α,β -ненасыщенного альдегида, которое не позволяет образоваться необходимому переходному состоянию, а следовательно, и продуктам 1,4-восстановления.

Осуществить 1,4-восстановление цитраля удалось при увеличении времени реакции до 2 часов в абсолютном диэтиловом эфире. В реакционной смеси содержалось 47% продуктов 1,4-восстановления и 53% гераниола – продукта 1,2-восстановления. Можно предположить, что сначала образуется гераниол, который изомеризуется в соединения **29** и **30**.



При анализе спектров ^1H -ЯМР продуктов реакции **29** и **30** наблюдается смещение сигнала протонов метильной группы С-10 в сильное поле (0.88 м.д.) по сравнению с цитралем (1.53 м.д. и 1.54 м.д.). Мультиплет сигналов протонов метиленовой группы, связанной с гидроксилом (в области 3.5 м.д.), указывает на восстановление аллильной двойной связи и образовании изоупулегола **29**. Об изомеризации двойной связи ω -звена можно судить по характерным дублетам в области 5.0 м.д., соответствующим атомам водорода конечной метиленовой группы.

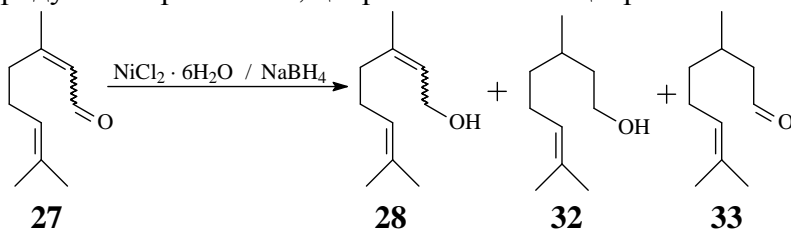
Восстановление полипреналей $\text{C}_{35}\text{-C}_{55}$ **4** $\text{LiAlH}_4/\text{CuI}$ при 0°C в диэтиловом эфире в течение 2 часов при соотношении реагентов $\text{LiAlH}_4/\text{CuI}/\text{полипреналь}=1/4/1$ прошло с образованием долихала **31** с выходом 14%.



В ИК спектре соединения **31** наблюдается смещение полосы валентных колебаний $\text{C}=\text{O}$ группы сопряженного альдегида (1676 см^{-1}) в область 1730 см^{-1} , что свидетельствует о насыщении α -звена полипреналя. ПМР спектр не содержит сигналов протонов метиновой группы α -звена в области 5.4 м.д., сигналы протонов метильной группы этого же звена сместились в сильное поле (0.8 м.д.), сигналы протонов карбонильной группы сместились аналогичным образом – в сильное поле.

Восстановление карбонильных соединений системой $\text{NaBH}_4/\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Хлорид никеля – «мягкая» кислота Льюиса, добавленная к борогидриду натрия, направляет реакцию гидрирования α,β -ненасыщенных карбонильных соединений преимущественно по пути 1,4-восстановления. В ходе реакции происходит образование трех основных продуктов гераниол **28**, цитронеллаль **33** и цитронеллол **32**.



В таблице 3 показаны выходы продуктов реакции при различных соотношения субстрата, хлорида никеля и борогидрида натрия.

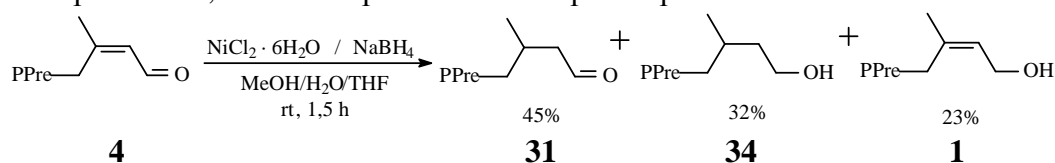
Таблица 3

Соотношение цитраль/ $\text{NiCl}_2/\text{NaBH}_4$	Конверсия, %	Выход, %			Условия реакции
		28	32	33	
1/10/4	98	-	25	65	rt, MeOH/ H_2O
1/1/4	95	-	65	-	-5, MeOH/ H_2O
1/0,5/4	90	2	69	-	-5, MeOH/ H_2O
1/0,25/4	87	17	51	5	-5, MeOH/ H_2O

В первой строке таблицы приведены результаты реакции, проведенной по методике, описанной в литературе. Уменьшая относительное количество хлорида никеля, удалось достаточно селективно провести 1,4- восстановление цитраля.

Продукты реакции анализировали методами ГЖХ и спектральными методами. ИК-спектр цитронеллола **32** демонстрирует смещение полосы валентных колебаний связи C-O из области 1006 см^{-1} до 1059 см^{-1} , подтверждая восстановление двойной связи при C-2 атоме углерода. В спектре ^1H -ЯМР наблюдается триплет в области 3.5 м.д., соответствующий метиленовым протонам C-1 атома углерода цитронеллола, дублет в области 0.8 м.д. метильных протонов C-8 углерода. В спектре отсутствуют сигналы метиленовых протонов C-1 и метиновых протонов C-2 атомов углерода в области 5.4 м.д., характерных для гераниолола и нерола. Образование цитронеллала **33** подтверждается смещением полосы валентных колебаний связи C=O карбонильной группы из области 1679 см^{-1} до 1725 см^{-1} в ИК-спектре. В спектре ПМР отсутствует сигнал метиновых протонов C-2 углерода в области 5.4 м.д. α,β -ненасыщенного альдегида и появляется дублет в области 0.9 м.д., принадлежащий метильным протонам C-8 углерода восстановленного карбонильного соединения.

Для гидрирования полипренала (смесь гомологов $\text{C}_{30}\text{-C}_{55}$) повторили литературное соотношение реагентов, изменив при этом состав растворителей.



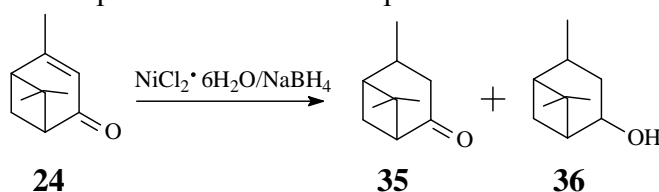
Восстановление проходит с конверсией 80%.

В результате реакции образуется 57% продуктов 1,4-восстановления полипренала **4**– 32% долихола **34** и 45% долихала **31**.

Структура долихола, выделенного из реакционной смеси адсорбционной колоночной хроматографией, подтверждена спектральными данными, которые полностью соответствуют литературным.

Вербенон **24** гидрируется в тех же условиях до вербанона **35** с конверсией 52%.

Изменение соотношения реагентов в сторону уменьшения относительного количества хлорида никеля и борогидрида натрия привело к образованию с практически полной конверсией 38% вербанолола **36** и 60% вербанона **35**.



Соотношение продуктов реакции определено ГЖХ. Структура полученных соединений подтверждена спектральными методами. В пользу образования насыщенных кетонов свидетельствует смещение полосы валентных колебаний группы С=О от 1700 см⁻¹ до 1718 см⁻¹ и отсутствие полосы поглощения двойной связи С=С в области 1625 см⁻¹, характерной для вербенона. Насыщение двойной связи подтверждается исчезновением сигнала протона при С-3 углеродном атоме в области 5.55 м.д. в ¹Н-ЯМР спектре и смещением сигналов углеродных атомов С-2 и С-3 из области 170.74 и 122.43 м.д. до 30.9 м.д. и 40.1 м.д. соответственно в ¹³С-ЯМР спектре.

Восстановление аллильных спиртов системой $\text{NaBH}_4/\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Боргидрид натрия, модифицированный хлоридом никеля, оказался селективной восстановительной системой для насыщения двойной связи в аллильном положении пренильных спиртов – гераниола, фарнезола и полипренола.

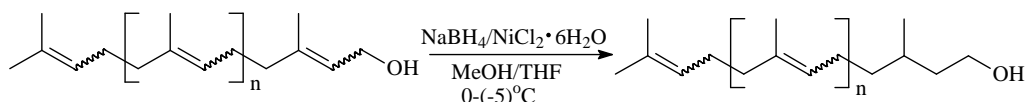


Таблица 4

Соединение	Соотношение субстрат/ $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}/\text{NaBH}_4$	Выход продуктов 1,4-восстановления, %
гераниол, n=0	1/0,25/2,0	73
фарнезол, n=1	1/0,25/2,5	78
полипренол, n=4-9	1/0,25/2,5	51

В таблице 4 показаны выходы продуктов 1,4-восстановления аллильных спиртов.

В результате воздействия NaBH_4 в присутствии 24-50 % $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ на соединения 1,2,3 селективно восстанавливается двойная связь в аллильном положении. Для исследованных алифатических терпеновых спиртов спектральные данные имеют общие закономерности. В ИК спектре полоса поглощения валентных колебаний С-О связи первичного спирта смещается в «красную область» от значения 1006 см⁻¹ до 1059 см⁻¹; при этом сохраняются полосы поглощения валентных колебаний С=С связи в области 1672 см⁻¹ и деформационных колебаний в области 840 см⁻¹, что свидетельствует о селективности восстановления двойной связи только в аллильном положении. В ¹Н-ЯМР спектре можно наблюдать исчезновение сигнала в области 4.02 м.д. появление триплета со значением 3.5 м.д., характерного для метиленовых протонов, связанных с гидроксильной группой восстановленного соединения. Появление дублета метильных протонов при С-3 атоме углерода в сочетании с исчезновением сигналов метиновых протонов С-2 атома углерода также подтверждает факт селективного восстановления.

2. Природные полипренолы. Эмульсионная экстракция из растительного сырья

Выбор в качестве источников РPre растительного сырья обусловлено относительно высоким содержанием в нем изучаемых соединений, - в среднем от 0.05 до 2 % от веса сухого сырья. Древесная зелень, как и сульфатное мыло, являются вторичными продуктами определенных технологических процессов. Столь различные, на первый взгляд, объекты исследования (СМ и ДЗ) в данной работе объединены единым принципом извлечения нейтральных компонентов и, в частности, РPre из сырья. В обоих случаях мы имеем дело с эмульсионной экстракцией.

Сульфатное мыло – вторичный продукт целлюлозно-бумажного производства, предоставлено цехом лесохимии Сыктывкарского лесопромышленного комплекса (СЛПК).

Древесная зелень пихты и ели собрана в окрестностях г. Сыктывкара, высушена при комнатной температуре до содержания влажности в сырье ~ 6 % и измельчена на шнековом измельчителе до размера частиц 1-5 мм.

Выделение нейтральных веществ (НВ) и полипренолов из ДЗ зелени ели и пихты и сульфатного мыла представлено на схеме 1.

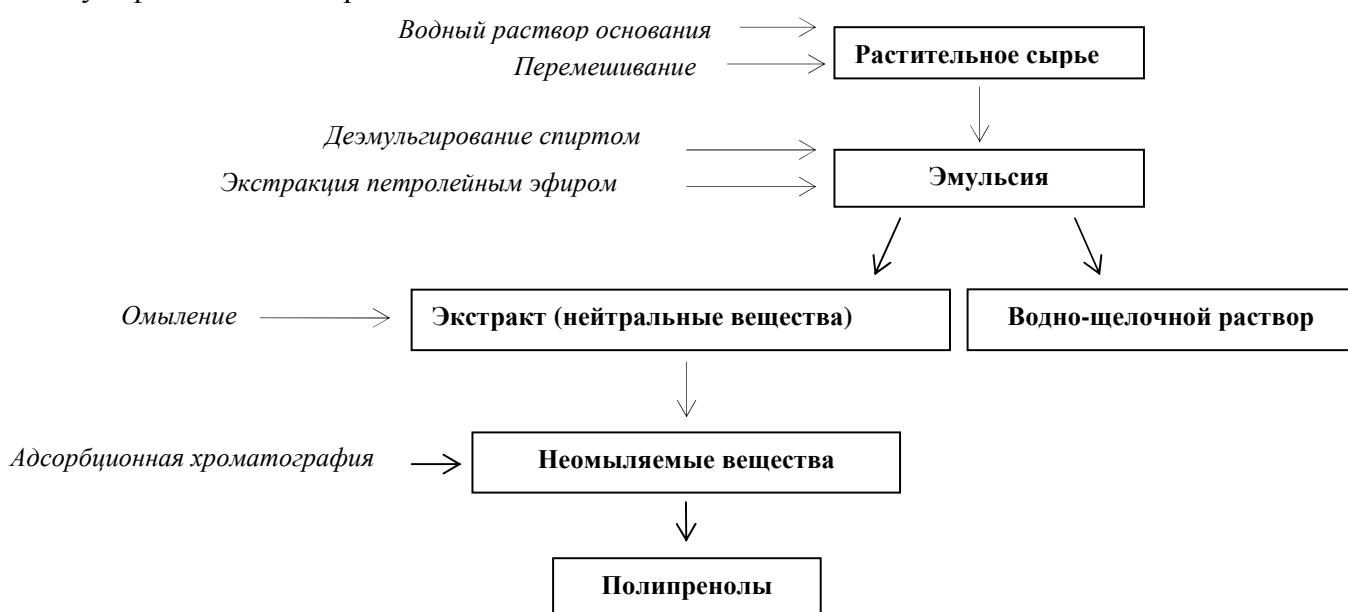


Схема 2. Выделение полипренолов из эмульсионных систем

Выделение полипренолов из сульфатного мыла

СМ образуется в процессе варки древесины на первой стадии технологического процесса производства бумаги и представляет собой эмульсию, где основными поверхностно-активными веществами (ПАВ) выступают натриевые соли смоляных и жирных кислот, а также компоненты деструкции лигнина. В состав СМ входят также углеводороды, спирты и сложные эфиры терпенового ряда. Для эффективной экстракции неомыляемых веществ из СМ неполярным растворителем – петролейным эфиром (п.э.) необходимо дезмульгирование, которое осуществляется низкомолекулярными спиртами – этанолом или изопропанолом.

В табл. 5 показаны результаты извлечения нейтральных веществ и полипренолов из СМ с применением низших спиртов – этанола и изопропанола.

Таблица 5

Извлечение нейтральных веществ и полипренолов из сульфатного мыла

Соотношение спирт / СМ / вода	Выход НВ, % от веса а.с.с.	Выход PPreOH	
		% от веса а.с.с.	% от суммы НВ
$C_2H_5OH / СМ / H_2O = 0,5 / 1,0 / 1,0$	10,1	0,8	7,9
$C_2H_5OH / СМ / H_2O = 0,7 / 1,0 / 1,0$	7,8	0,6	7,9
$C_3H_7OH / СМ / H_2O = 0,5 / 1,0 / 1,0$	10,7	1,4	12,7
$C_3H_7OH / СМ / H_2O = 0,7 / 1,0 / 1,0$	5,1	0,6	10,2

При соотношении компонентов гомогената $C_3H_7OH / СМ / H_2O = 0,5 / 1,0 / 1,0$ был достигнут выход НВ – 10,7% от веса сухого сульфатного мыла, что превысило аналогичный показатель для других систем, приведенных в табл.5, на 37 – 110%. Выход поли-

пренолов в тех же условиях составил 12,7 % от веса нейтральных компонентов, превышая подобный показатель для остальных систем, представленных в табл. 5, на 4 – 65%.

Выделенные адсорбционной хроматографией PPre представляют собой смесь изопренологов с различной длиной цепи. ВЭЖХ на обращеннофазной колонке Separon C₁₈ и данными спектра ¹H-ЯМР установлено, что смесь состоит из пяти гомологов, содержащих от 6 до 11 изопреновых единиц с преобладанием спиртов C₃₅-C₄₀. Реализация схемы 1 позволяет выделить из СМ, помимо PPre, ряд полезных и биологически-активных продуктов, таких как ситостерин, бетулин, сесквитерпеноиды, смоляные и жирные кислоты.

Выделение полипренолов их ДЗ ели и пихты

Разработан новый способ выделения липидов из хвои экстрагирующей эмульсией. Извлечение нейтральных компонентов (в том числе PPre) из ДЗ состоит из следующих стадий: 1) измельчение ДЗ; 2) смешение измельченного сырья с водным раствором основания; 3) набухание; 4) перемешивание смеси; 5) фильтрация; 6) деэмульгирование; 7) экстракция неполярным растворителем.

Стадия настаивания характеризуется осмотическими и капиллярными явлениями. Происходит взаимодействие раствора щелочи с экстрактивными компонентами, находящимся в межклеточном пространстве, которые представлены смоляными кислотами (абиетиновая, левопимаровая). Образующиеся соли смоляных кислот являются ПАВ и формируют мицеллы. Одновременно происходит взаимодействие раствора основания с клеточной стенкой. При этом она частично разрушается за счет растворения гемицеллюлоз, входящих в состав клеточной стенки, тем самым обеспечивается взаимодействие раствора основания с внутриклеточными экстрактивными веществами. Продолжается процесс мицеллообразования. Ряд неполярных компонентов, нерастворимых в воде, солюбилизуются мицеллами. Перемешивание интенсифицирует процесс взаимодействия измельченной ДЗ со щелочным реагентом. Деэмульгирование проводили этанолом, экстракцию нейтральных компонентов – петролейным эфиром.

На выход экстрактивных веществ из ДЗ влияет природа щелочного агента, его концентрация в растворе, внесение экзогенных ПАВ, воздействие ультразвука.

Влияние природы и концентрации основания на выход нейтральных веществ и полипренолов из ДЗ ели и пихты.

Выявление закономерностей эмульсионной экстракции нейтральных веществ и полипренолов проводили с использованием 2, 5, 10 и 20% водных растворов NaOH и KOH. Процесс образования эмульсии включал в себя стадию настаивания в течение 1 часа, перемешивание в реакторе V = 1 л со скоростью 300 об/мин. Деэмульгирование проводили этиловым спиртом (0,3 мл этанола /1г а.с.с), экстрагировали нейтральные вещества петролейным эфиром. Количество полипренолов определяли ВЭЖХ на колонке Silosorb 600.

Анализ результатов позволяет сделать выводы о влиянии катиона щелочного металла основания на выход целевых компонентов. Для извлечения нейтральных компонентов из ДЗ ели оптимальным является 5-10 % растворы NaOH и KOH. Выход НВ при этом составляет 1,4-1,8 % от веса а.с.с.(рис.1).

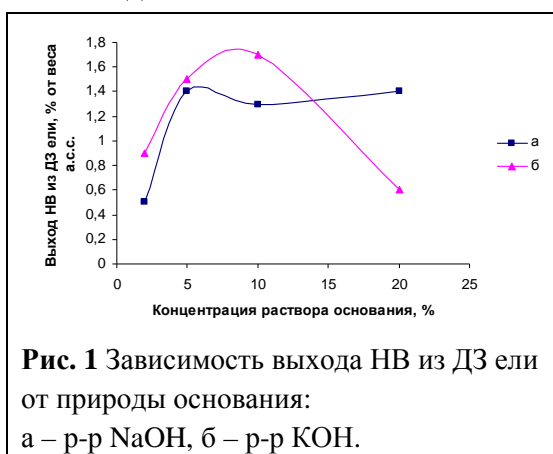


Рис. 1 Зависимость выхода НВ из ДЗ ели от природы основания:
а – p-p NaOH, б – p-p KOH.

Интересно отметить, что извлечение полипиренолов значительно зависит от природы катиона щелочного металла основания: эмульсионная система, создаваемая водными растворами NaOH, экстрагирует до 0,18% целевых компонентов из ДЗ ели, максимум наблюдается для 5% раствора. Концентрация растворов KOH не оказывает значительного влияния на степень извлечения полипиренолов, при этом их выход не превышает 0,06% от веса а.с.с.(рис.2).

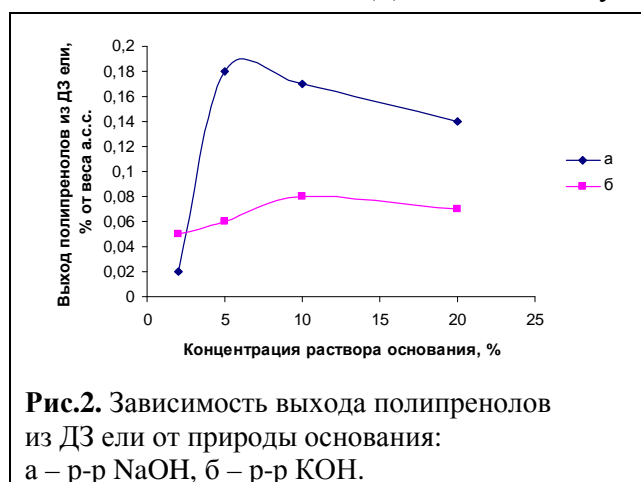


Рис.2. Зависимость выхода полипиренолов из ДЗ ели от природы основания: а – р-р NaOH, б – р-р KOH.

Для ДЗ пихты оптимальная концентрация растворов NaOH и KOH находится также в диапазоне 5-10% (рис.3). Хотя можно отметить максимум для экстрагирования нейтральных веществ 5% раствором KOH, при котором их выход составил 5,1% от веса а.с.с. Извлечение полипиренолов происходит подобным образом как растворами NaOH, так и KOH, имея максимум в диапазоне концентраций водных растворов основания 5-10%.

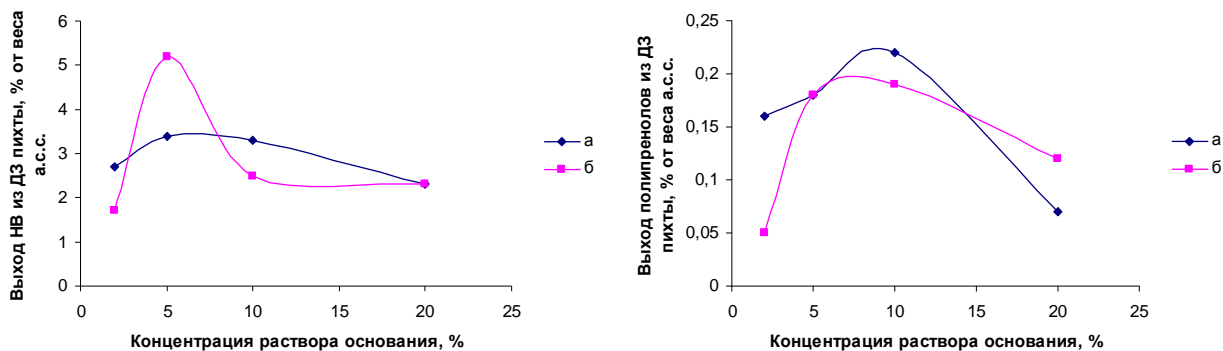


Рис.3. Выход нейтральных веществ и полипиренолов из ДЗ пихты при эмульсионной экстракции водными растворами NaOH и KOH

Влияние продолжительности обработки ультразвуком на выход нейтральных компонентов и полипиренолов.

Обработку ультразвуком (УЗ) проводили на приборе УЗДН-1 при частоте генератора излучателя $22 \pm 1,65$ кГц перед операцией перемешивания. ДЗ ели, обработанную раствором NaOH (гидромодуль 1:10, соотношение ДЗ:NaOH = 1:0,5), подвергали воздействию УЗ в течение 0 – 60 минут. После чего следовали стадия перемешивания, деэмульгирования и экстракции. Результаты экспериментов отображены на рис.4.

Действие УЗ на эффективность экстракции объясняется улучшением гидродинамических условий процесса. Учитывая строение растительного сырья, которое представляет собой разветвленную систему капилляров, можно предположить, что вследствие изменения давления при сжатии и разряжении при воздействии ультразвука возникает эффект «губки», улучшающий проникновение экстрагента в капилляры ДЗ.

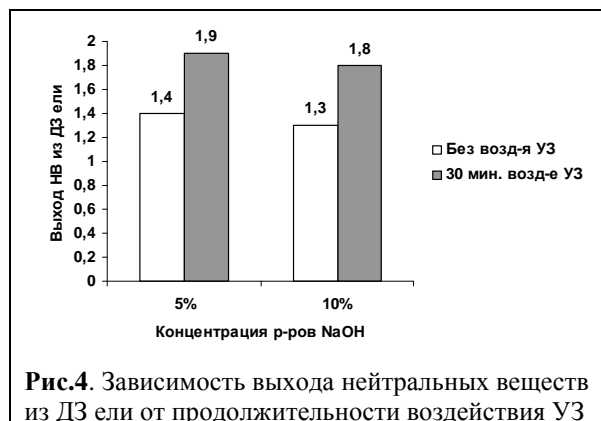


Рис.4. Зависимость выхода нейтральных веществ из ДЗ ели от продолжительности воздействия УЗ

Тенденция увеличения выхода нейтральных веществ и полипренолов из ДЗ ели сохраняется и в случае обработки сырья 10 % раствором NaOH (рис.4).

Выход нейтральных веществ из ДЗ ели при 30-минутном воздействии УЗ на эмульсии, образованные 5 % и 10 %-ными растворами NaOH, увеличивается на 36 и 38 % соответственно (рис.4).

Влияние экзогенных добавок на выход нейтральных компонентов из ДЗ пихты.

Для изучения действия экзогенных добавок в экспериментах использовали петролейный эфир и ПАВ – коммерческий алкилбензол-сульфонат натрия для синтетических моющих средств (СМС), которые добавляли к смеси в процессе перемешивания.

Добавление 10% петролейного эфира (от общего объема смеси) при перемешивании увеличивает выход нейтральных компонентов из ДЗ пихты почти в два раза (рис.5).

Увеличение выхода НВ из растительного сырья прослеживается и в случае добавления экзогенных ПАВ в процессе перемешивания (рис.6).

После проведения серии опытов, в которых к 2 % раствору NaOH добавлялось от 0,5 до 2 % ПАВ, выяснилось, что происходит увеличение выхода нейтральных компонентов на 65% по сравнению с контролем и составляет 4,6 % от веса а.с.с. при добавлении 1% ПАВ.

Полученные результаты демонстрируют, что увеличение выходов нейтральных компонентов происходит при снижении поверхностного натяжения и увеличении площади поверхности дисперсной фазы, чему способствуют различные факторы.

В частности, концентрация щелочного раствора и природа металла основания влияет на процесс образования солей кислот – эндогенных ПАВ. Введение неполярных растворителей, ПАВ, воздействие УЗ являются внешними факторами, способствующими увеличению выхода целевых компонентов в ходе эмульсионной экстракции растительного сырья.

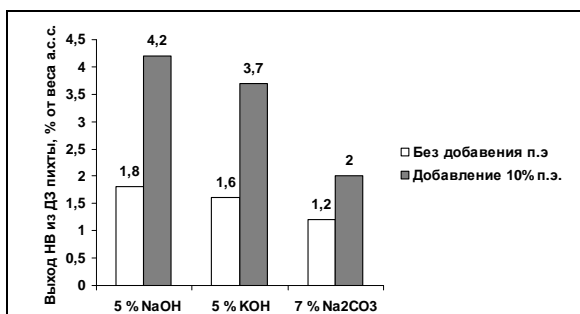


Рис.5. Зависимость выхода нейтральных веществ из ДЗ пихты от добавления ПЭ.

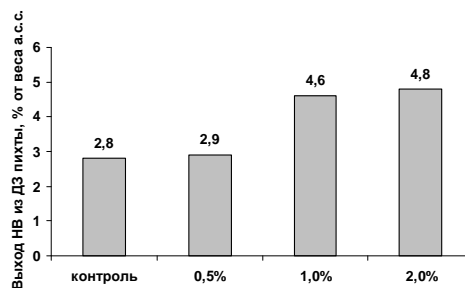


Рис.6. Зависимость выхода нейтральных веществ из ДЗ пихты от добавления экзогенных ПАВ.

ВЫВОДЫ

1. Разработана схема пренилирования производного хлорофилла –метилфеофорбида (а) через N-полипренилэтилендиамин. Впервые синтезирован 13-N-(аминоэтил)-N-(полипренил)-амид-15,17-диметилового эфира хлорина е₆. Показано, что в результате взаимодействия метилфеофорбида (а) с N-полипренилэтилендиамином происходит раскрытие экзоцикла Е и образуется третичный амид хлорина е₆.
2. Расширена область пренилированных соединений в результате взаимодействия полипренолов с аминогруппой в синтезе аналога SDB-этилендиамина – N,N'-Бис(3,4-диметоксibenзил)-N-полипренил-N'-этилендиамина.

3. Впервые проведено алкилирование фенолов природными изопреноидными спиртами C₃₅-C₅₅ в присутствии фенолята алюминия. Показано, что алкилирование фенолов полипренолами C₃₀-C₅₅ при 120-130 °С при эквимолярном соотношении фенолята алюминия и полиизопреноидного спирта приводит к селективному образованию *орто*-пренилфенола.
4. Изучены закономерности реакции восстановления терпеновых α,β-ненасыщенных карбонильных соединений комплексными гидридами металлов в присутствии кислот Льюиса. Показано, что использование NaBH₄, модифицированного 25-50 % NiCl₂·6H₂O, приводит к 1,4-сопряженному восстановлению терпеновых α,β-ненасыщенных карбонильных соединений и позволяет получить долихол из полипреналя.
5. Показана возможность восстановления аллильных терпеновых спиртов NaBH₄ в присутствии NiCl₂·6H₂O. При этом происходит селективное восстановление двойной связи в аллильном положении полиненасыщенного спирта. Метод может быть применен для синтеза долихола из полипренола.
6. Выделены и охарактеризованы спектральными методами полипренолы из древесной зелени ели и пихты и древесины березы. Разработан и запатентован способ выделения нейтральных веществ и полипренолов из древесной зелени эмульсионным способом. Определены факторы, влияющие на эффективность извлечения целевых компонентов. Для более полного извлечения нейтральных компонентов и, в частности, полипренолов, из ДЗ эмульсионным способом предложено использование 5 % водных растворов NaOH. Воздействие ультразвука, добавки экзогенного ПАВ или неполярного растворителя в ходе эмульсионной экстракции увеличивают выход целевых компонентов. Предложенный метод хорошо вписывается в схему комплексной переработки хвойной древесной зелени.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Королева А.А., Карманова Л.П., Кучин А.В. Способ выделения полипренолов из растительного сырья // «Известия ВУЗов. Химия и химическая технология». 2005. Том 48, вып. 3. – С. 97-99.
2. Королева А.А., Карманова Л.П., Белых Д.В. Кучин А.В. Синтез пренилированных производных хлорина e₆ // «Известия ВУЗов. Химия и химическая технология». 2006. Том 49, вып. 6. – С. 73-76.
3. Королева А.А., Карманова Л.П., Кучин А.В. Полипренолы из растительного сырья // «Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения». 2005. №7. – С. 72-74.
4. Кучин А.В., Карманова Л.П., Королева А.А. Низкомолекулярных компонентов древесной зелени хвойных пород *Picea*, *Abies*, *Pinus* и новый метод их выделения // «Химия в интересах устойчивого развития». 1997. № 5. С. 7-20.
5. Кучин А.В., Карманова Л.П., Королева А.А., Хуршкайнен Т.В., Сычев Р.Л. Эмульсионный способ выделения липидов. Патент РФ № 2117487, 1998.
6. Кучин А.В., Карманова Л.П., Королева А.А., Хуршкайнен Т.В., Сычев Р.Л. Способ выделения липидов с использованием ультразвука. Патент РФ № 2119347, 1998.
7. Кучин А.В., Карманова Л.П., Королева А.А., Хуршкайнен Т.В., Сычев Р.Л. Способ выделения нейтральных веществ липидов. Патент РФ № 2138283, 1998.
8. Кучин А.В., Карманова Л.П., Королева А.А. Способ выделения липидов. Патент РФ № 2089208, 1998.
9. Карманова Л.П., Моисеенков А.М., Королева А.А., Кучин А.В. Исследование состава низкомолекулярных компонентов древесной зелени хвойных пород *Pinus*, *Picea*, *Abies* // «Химия древесины и лесохимия». Труды Коми НЦ УрО РАН, 1993. – №129.

10. Карманова Л.П., Королева А.А., Кучин А.В. Бетулапrenoлы из сульфатного мыла. // «Лесохимия и органический синтез». Труды Коми НЦ УрО РАН 1996. – №144. – С. 61-67.
11. Карманова Л.П., Королева А.А., Кучин А.В. Выделение липидов древесной зелени хвойных пород. Нейтральные вещества древесной зелени пихты // «Лесохимия и органический синтез». Труды Коми НЦ УрО РАН 1999. – №162. – С. 6-12.
12. Карманова Л.П., Королева А.А., Кучин А.В. Выделение липидов экстракцией системой «гидроксид натрия – петролейный эфир» // 3-е Всероссийское совещание «Лесохимия и органический синтез»: Тез. докладов. – Сыктывкар. 1998. – С.50.
13. Кучин А.В., Королева А.А., Дворникова И.А. Экстракция и некоторые трансформации природных полипrenoлов // Международная конференция по натуральным продуктам и физиологически активным веществам: Тез. докладов. – Новосибирск. 1998.
14. Kutchin A.V., Korolyova A.A., Dvornikova I.A., Karmanova L.P., Patov S.A. Isolation and transformation of natural polyphenols // XIX Conference on isoprenoids. Abstracts. Poland.
15. Королева А.А., Карманова Л.П., Белых Д.В. Кучин А.В. Синтез 13-N-(аминоэтил)-N-(полипренил) -амида-15, 17 диметилового эфира хлорина e_6 // IX Международная конференция по химии порфиринов и их аналогов: Тез. докладов. – Суздаль, 2003. – С.105.
16. Карманова Л.П., Королева А.А., Кучин В.А., Кучин А.В. Получение физиологически активных веществ экстракцией растительного сырья водным раствором основания // III Международная конференция «Экстракция органических соединений»: Тез. докладов. – Воронеж. 2005. – С.181.
17. Карманова Л.П., Королева А.А., Кучин В.А., Кучин А.В. Экстракция хвойной зелени водным раствором основания // IV Всероссийская конференция «Химия и технология растительных веществ»: Тез. докладов. – Сыктывкар. 2006. – С.379.
18. Чукичева И.Ю., Буравлев Е.В., Тимушева И.В., Королева А.А., Кучин А.В. Каталитический способ синтеза терпенофенольных антиоксидантов // IV Всероссийская конференция «Химия и технология растительных веществ»: Тез. докладов. – Сыктывкар. 2006. – С.215.
19. Чукичева И.Ю., Тимушева И.В., Королева А.А., Кучин А.В. Полусинтетические пренилфенолы. II Международная конференция «Химия, структура и функции биомолекул»: Тез. докладов. – Минск. 2006. – С.152.