

На правах рукописи



Степанова Елена Владимировна

**СЛОЖНЫЕ ЭФИРЫ ФЕНОЛОКИСЛОТ ФЕНОЛГЛИКОЗИДОВ:
ОБЩИЕ МЕТОДЫ СИНТЕЗА И НАХОЖДЕНИЕ В КОРЕ
POPULUS TREMULA (ОСИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ)**

02.00.03 - органическая химия

Автореферат

диссертация на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Томск – 2014

Работа выполнена на кафедре биотехнологии и органической химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Филимонов Виктор Дмитриевич

Официальные оппоненты: Чемерис Михаил Матвеевич,
доктор химических наук, профессор,
Алтайский государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
профессор кафедры химической технологии

Дычко Константин Александрович,
кандидат химических наук, доцент,
Национальный исследовательский
Томский государственный университет,
доцент кафедры органической химии.

Ведущая организация: Новосибирский институт органической химии
им. Н.Н. Ворожцова СО РАН (г. Новосибирск)

Защита состоится « 28 » мая 2014г в 14.30 часов на заседании диссертационного совета Д 212.269.04 при ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634050, Томск, пр. Ленина, 43, 2-й корпус ТПУ, Малая химическая аудитория, e-mail: tvn@tpu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке ФГБОУ ВПО НИ ТПУ по адресу: Томск, ул. Белинского, 55и на сайте: dis.tpu.ru

Автореферат разослан « » апреля 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета Д 212.269.04

Гиндуллина Т.М.

Актуальность работы. Фенолгликозиды, являясь вторичными метаболитами растений, широко распространены в растительном мире, содержатся в различных частях растений семейства Ивовые (*Salicaceae*) и обладают обширным спектром биологической активности. Так, препараты, изготовленные на основе коры осины (*Populus tremula*) – давно известное народное средство для лечения целой гаммы заболеваний. Биологическая активность коры осины определяется ее химическим составом, основную часть которого составляют различные фенолгликозиды, в том числе сложные эфиры фенолокислот и фенолгликозидов (ЭФГ).

На пути создания лекарственных средств из растительного сырья первой проблемой является выделение нужного количества действующих веществ для их фармакологического тестирования, поскольку экстракт коры осины представляет собой сложную многокомпонентную систему, состоящую в основном из ЭФГ, трудно поддающихся разделению. К данному моменту из природных источников были выделены только те ЭФГ, которые содержатся в наибольшем количестве, однако, это лишь небольшая часть соединений в составе экстракта. Даже по предварительным оценкам, на данный момент идентифицировано только 1-5 % ЭФГ из общего состава. Выделение же минорных соединений осуществить гораздо труднее, поэтому, полный химический состав коры осины остается малоизученным. Достоверной идентификации многих компонентов можно добиться лишь путем сравнения со стандартами, и даже современные методы исследования не всегда способны корректно определить структуру содержащихся в природных источниках соединений. В связи с этим возникает потребность химического синтеза ЭФГ. Кроме того, наличие в коре осины не идентифицированных фенолгликозидов ставит задачу получения возможных изомеров известных ЭФГ и гликозидов с предполагаемой структурой для проверки их присутствия в экстракте. Применение синтезированных ЭФГ как стандартов позволит провести исследование химического состава коры осины, а также способствовать изучению их биологической активности.

Несмотря на развитие синтетических методов в органической химии, в литературе не найдено общих методов синтеза ЭФГ коры осины. Предпринимались попытки синтеза некоторых ЭФГ, однако все они были безуспешными. В настоящее время существует множество методов гликозилирования и создания сложноэфирных связей, однако нет простого и универсального подхода, пригодного для синтеза ЭФГ различных структур. Особый интерес среди сложных эфиров фенолгликозидов семейства *Salicaceae* вызывают специфические 2'-О-цетил ЭФГ. Селективное введение ацильной группы в определенные положения углеводного остатка представляет собой нетривиальную синтетическую задачу. В настоящее время существует множество химических и ферментативных методов, позволяющих получать 6'-, 3'-, 4'-моноацилзамещенные сахара. Однако известные методы получения 2'-О-ацетил глюкопиранозидов реализуется посредством трудоемкого многостадийного синтеза с применением различных защитных групп. Как 2'-О-ацетил замещенные ЭФГ, так и не содержащие ацетильных групп представляют интерес с фитохимической точки зрения, поскольку могут служить специфическими хемотаксономическими маркерами для различных видов растений.

Цель работы: Разработка синтетических путей получения сложных эфиров фенолгликозидов и исследование химического состава коры *P. tremula*.

Положения, выносимые на защиту:

1. Первый полный синтез природных сложных эфиров фенолгликозидов
2. Общие схемы синтеза эфиров фенолгликозидов, производных салицина (4 стадии) и салирепина (6 стадий) из доступных субстратов
3. Система HCl-EtOH-CHCl_3 для селективного снятия ацетильных защитных групп в гликозидах с сохранением гликозидной связи, бензоильных и циннамоильныхсложноэфирных групп.

4. Одностадийное получение труднодоступных 2'-О-ацетилглюкопиранозидов путем частичного снятия ацетильных групп полных ацетатов гликозидов
5. Методы ГХ-МС и ВЭЖХ в исследовании гликозидного состава экстрактов *Populus tremula*. Доказательства наличия в *Populus tremula* эфиров феногликозидов, ранее не описанных в литературе и не найденных в природе

Научная новизна работы.

1. По разработанной в диссертации общей методике впервые осуществлен полный синтез 7 природных фенолгликозидов, содержащих остатки бензойных и коричных кислот и 12 сложных эфиров фенолгликозидов, не описанных в литературе и не найденных в природе.
2. Предложена новая система для селективного снятия ацетильных защитных групп фенолгликозидов с сохранением гликозидной связи - водный раствор HCl в EtOH и CHCl₃, и установлены количественные факторы реакционной способности в гидролизе различных ацетильных групп полных ацетатов гликозидов
3. Впервые разработан удобный одностадийный метод синтеза 2'-О - ацетил производных фенолгликозидов
4. Впервые доказано существование в коре *P.tremula* 8 новых феногликозидов, а также 7 фенолгликозидов, выделенных из других растений семейств Ивовые и ранее не найденных в составе *P.tremula*

Практическая значимость.

1. Предложены общие схемы полного синтеза эфиров феногликозидов различной структуры, из легкодоступных субстратов, которые могут быть применимы для синтеза фенолгликозидов, содержащих ацильные остатки фенольных кислот в различных положениях агликона или углеводного остатка, что представляет практическую ценность для химии углеводов.
2. Предложен метод дезацетилирования фенолгликозидов с сохранением других ацильных групп и без расщепления гликозидной связи, что может найти широкое применение в химии углеводов.
3. Установлено, что спектры масс-распада 2'-О-ацетил – ТМС - глюкопиранозидов отличает специфический ион 289, что может быть использовано для группового определения гликозидов с 2'-О-ацетилглюкозидным остатком в растениях методом ГХ-МС
4. Предложен метод прямого формилирования моноацилфенолов для получения ацилокси 2-формилфенолов как агликонов феногликозидов.
5. Разработаны методики ГХ-МС и ВЭЖХ определения гликозидного состава *P.tremula* с использованием в качестве стандартов синтезированных гликозидов. Существенно уточненный гликозидный состав *P.tremula* служит научной основой будущего получения различных природных и синтетических лекарственных препаратов на основе сложных эфиров фенолоксилфенолгликозидов.

Апробация работы. Отдельные части работы докладывались и обсуждались на Всероссийской конференции «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2010, 2011, 2012, 2013 гг.); Всероссийском конкурсе научно-исследовательских работ бакалавров в области химии (Уфа, 2010 г.); Всероссийской конференции «Актуальные проблемы органической химии» (Новосибирск, 2010 г.); Международной конференции «Возобновляемые лесные и растительные ресурсы: химия, технология, фармакология, медицина» (Санкт-Петербург, 2011 г.); II-всероссийской конференции «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва, 2012 г.); II Международной Казахстанско-Российской конференции по химии и химической технологии (Караганда, Казахстан, 2012 г.); кластере конференций по органической химии «ОргХим – 2013» (Санкт-Петербург, 2013г.); X Международной конференции студентов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, 2013 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 3 статьи, 14 докладов, тезисы 16 докладов.

Объем и структура работы. Работа изложена на 144 страницах, содержит 21 рисунок и 14 таблиц. Состоит из введения, 4 глав, выводов и списка литературы из 274 наименований. Первая глава диссертации посвящена литературному обзору о природных фенолгликозидах, их свойствах, нахождении в природе, способах синтеза, а также способов синтеза промежуточных продуктов. Вторая глава посвящена исследованию химического состава коры *P.tremula*, в третьей главе описываются общие методики синтеза ЭФГ. Четвертая глава посвящена описанию экспериментальной части работы.

Работа выполнена на кафедре Биотехнологии и Органической химии Томского Политехнического университета. Работа была поддержана грантами «Умник» ГК № 17195, 2013, индивидуальным грантом молодого ученого ИФВТ ТПУ в номинации «Аспиранты», 2013, а также а также входит в проект по госзаданию «Наука» № 446 3.1344.2014.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2 Исследование химического состава экстракта коры *Populus tremula* (Осины обыкновенной) на содержание фенолгликозидов

Нами и некоторыми авторами было замечено, что все фенолгликозиды растений семейства Ивовые, содержат только две базовые структуры: гликозида салицилового спирта (салицина) и гликозида гентизинового спирта (салирепина). В то же время было установлено, что в гидролизованных метанольных экстрактах различных растений семейства Ивовые содержатся различные коричные и бензойные кислоты: салициловая, 4-гидроксibenзойная, ванилиновая, коричная, феруловая, кофейная, и др. Следовательно, в самих растениях эти кислоты находятся в связанном виде, например, в виде сложных эфиров с гликозидами. Таким образом, комбинация одной из базовых структур фенолгликозидов и какой-либо обнаруженной в растениях кислот, позволит создать соединения, обладающие потенциальной биологической активностью, но не обнаруженные в природных источниках к настоящему моменту. Проверка их содержания в коре осины позволит провести идентификацию неизвестных компонентов. В данной работе мы осуществили синтез сложных эфиров фенолгликозидов предполагаемой структуры, содержащие остатки салицина или салирепина, ацилированного какой-либо из обнаруженных в растениях семейства Ивовые фенольных кислот (Глава 3). Полученные нами ЭФГ были использованы в качестве стандартов для проверки их содержания в коре осины обыкновенной (*P. tremula*).

Исследование химического состава экстракта коры осины осуществлялось методами ГХ-МС с использованием в качестве стандартов гликозидов, содержащих остатки бензойных кислот, и ВЭЖХ в случае гликозидов, содержащих остатки коричных кислот. Последние показали низкую термическую стабильность, как в виде ацетильных, так и триметилсилиловых производных, поэтому метод газовой хроматографии оказался непригодным для их анализа.

2.1 Приготовление экстракта

Кора *P. tremula* (осины обыкновенной) была собрана в окрестностях г. Томска в мае 2009 г., высушена при н.у. и измельчена. Сухую кору (50 г) *P. tremula* экстрагировали 70% EtOH при кипячении и упаривали растворитель при пониженном давлении. Для последующей очистки этанольного экстракта полученный остаток растворяли в воде, отфильтровывали нерастворимые частицы, водный раствор промывали гексаном, экстрагировали EtOAc. После удаления EtOAc, был получен экстракт в количестве 2.3 г (Выход 4.6 %).

Для ГХ-МС анализа проводили дериватизацию экстракта исчерпывающим ацелированием или через образование ТМС-производных. Для идентификации соединений методом ВЭЖХ осуществляли предварительное разделение полученного экстракта на фракции при помощи колоночной хроматографии (CHCl₃-EtOH 15:1-4:1).

2.2 Исследование экстракта методом ГХ-МС

Идентификацию гликозидов проводили путем сравнения времен удерживания веществ-стандартов и веществ, содержащихся в экстракте, а также по спектрам их масс - распада по общему ионному току (TIC) (Рис. 1), или выделяя из TIC ионы, характерные для спектров масс - распада каждого исследуемого соединения (SIM).

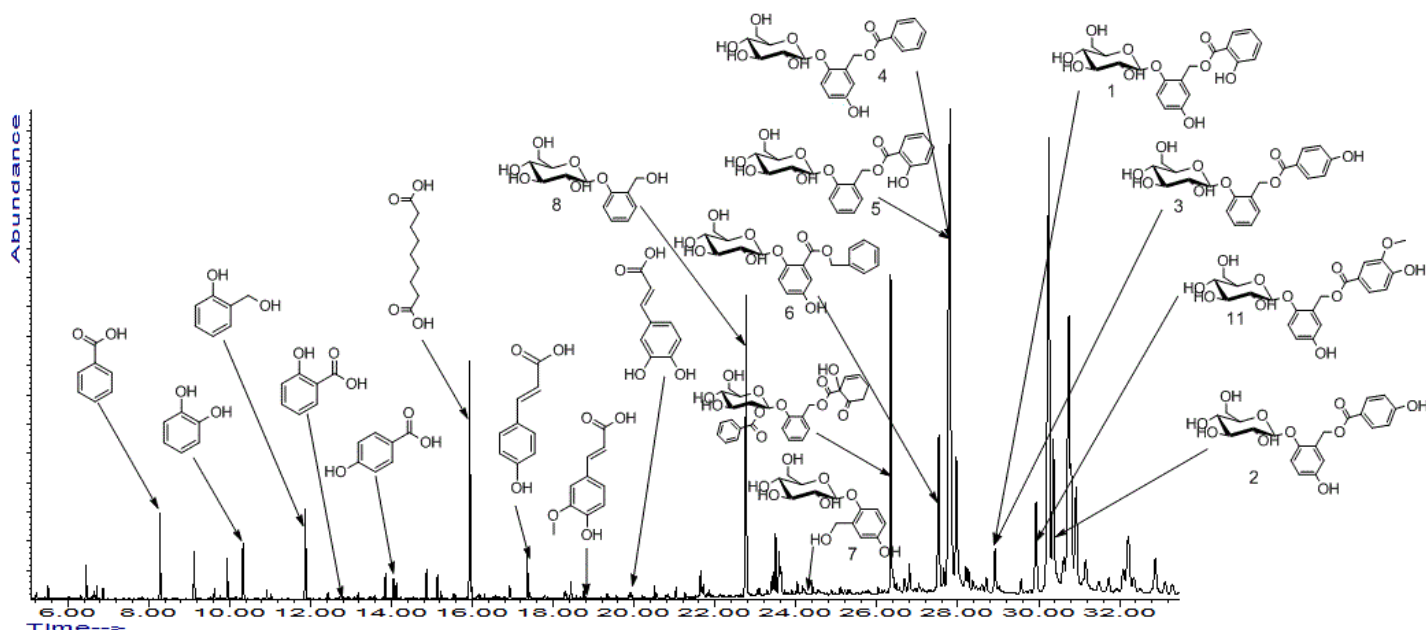


Рисунок 1 – Результат проведения исследования химического состава коры *P.tremula* методом ГХ-МС (по общему ионному току). Положение обнаруженных соединений на хроматограмме указано стрелками.

Для спорных соединений (в случае совпадения времен удерживания и масс-спектров двух образцов) проводили дополнительную идентификацию их полных ацетатов при сравнении с ацелированным экстрактом коры осины.

2.3 Исследование химического состава экстракта методом ВЭЖХ

Для определения содержания ЭФГ фракции, полученные после колоночной хроматографии, и в которых были предварительно идентифицированы методом ТСХ некоторые фенолгликозиды, анализировали методом ВЭЖХ. После чего проводили сравнение времен удерживания стандартных веществ с веществами, содержащимися в экстракте, а также добавляли стандартные вещества в анализируемую пробу экстракта и по увеличению площади и высоты пиков устанавливали содержание исследуемых гликозидов. Результаты проведения анализа представлены на Рис. 2 и в Таблице 1

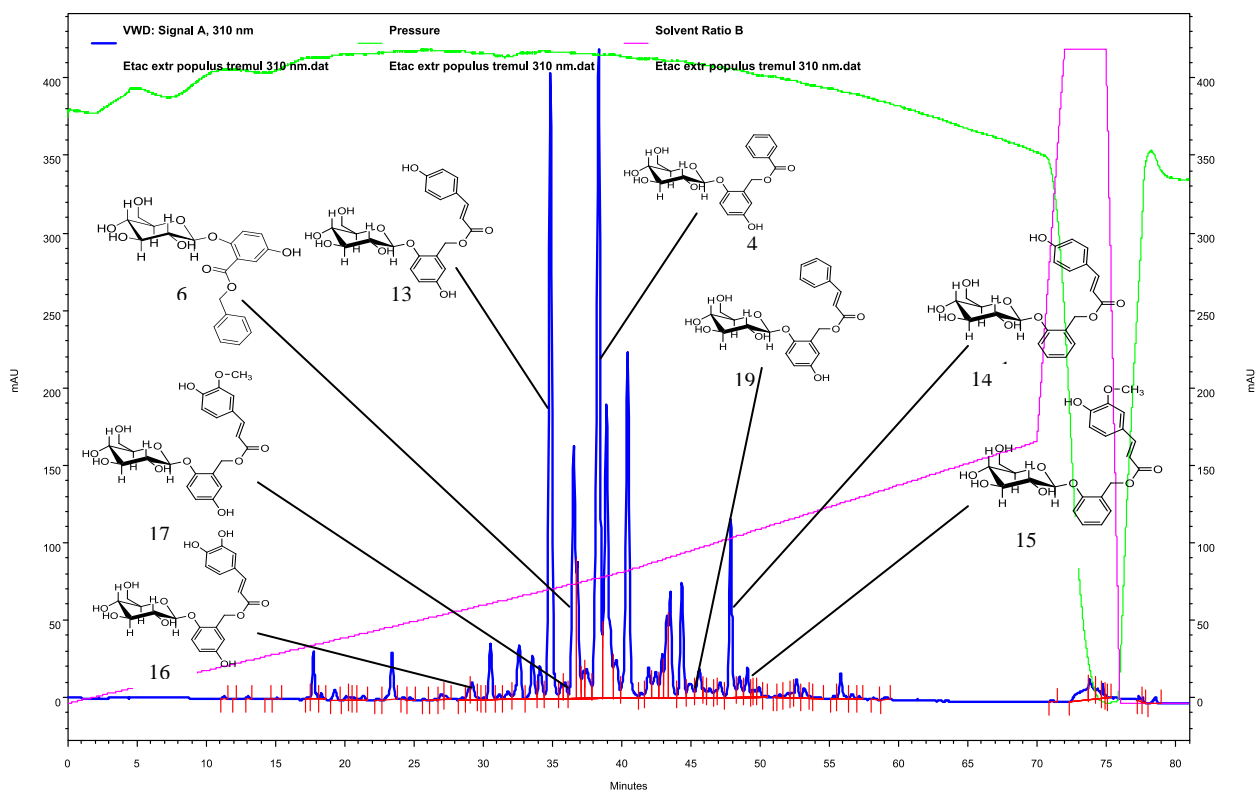
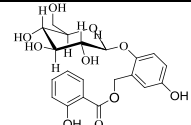
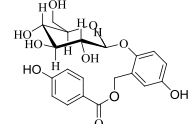
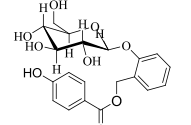
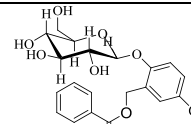
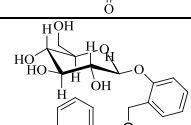
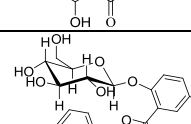
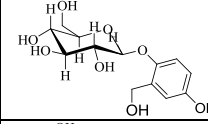
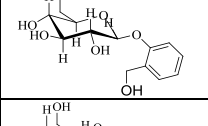
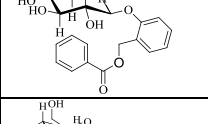
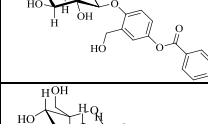
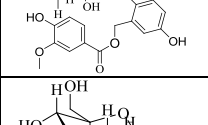
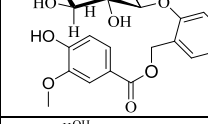
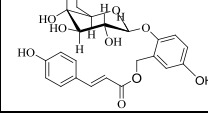


Рисунок 2 – Результат ВЭЖХ анализа экстракта *P.tremula* (колонка Eclipse Plus C-18, 310 нм)

Таблица 1 – Результаты количественного определения фенолгликозидов в очищенном экстракте коры *P.tremula*. Для гликозидов, содержащие бензоильные группы, данные по ГХ-МС (ТIC), для гликозидов, содержащих остатки коричных кислот – данные количественного анализа по ВЭЖХ (метод добавок)

	Структурная формула	Название	Содержание, %
1		Салицилоил-салирепин	1.08*
2		4-гидроксibenзоил-салирепин	4.58
3		4-гидроксibenзоил-салицин	1.08*
4		Салирепозид	13.95 ** 95
5		Салицилоил-салицин	13.95 **
6		Трихокарпин	3.39
7		Салирепин	0.24
8		Салицин	3.86
9		Дезокси-салирепозид	нет
10		Изо-салирепозид	нет
11		3-метокси-4-гидроксibenзоил-салирепин	2.17
12		3-метокси-4-гидроксibenзоил-салицин	***
13		Популозид А	11.08

14		Популозид В	0.70
15		Популозид С	1.09
16		Кофеоил-салирепин	0.60
17		Ферулоил-салирепин	1.6
18		Популозид	****

19		Циннамоил-салирепин	0.51
20		Циннамоил-салицин	****
21		Тремулацин	3.4

* суммарное количество соединений 1 и 3
 ** суммарное количество соединений 4 и 5
 *** незначительное количество
 **** удалось зафиксировать методом ТСХ, но не удалось определить количественно

3 Общие методы синтеза сложных эфиров фенолгликозидов

3.1 Ретросинтетический анализ природных 2-ацил фенолгликозидов на примере салирепозида

Мы рассмотрели ретросинтетический анализ ЭФГ на примере природного фенолгликозида салирепозида. Предложено два основных пути синтеза этого гликозида: ацилирование по спиртовой группе пентаацетил-салирепина (Схема 1, путь а) или замещением брома гликозида (I) на ацилокси группу (Схема 1, путь б).

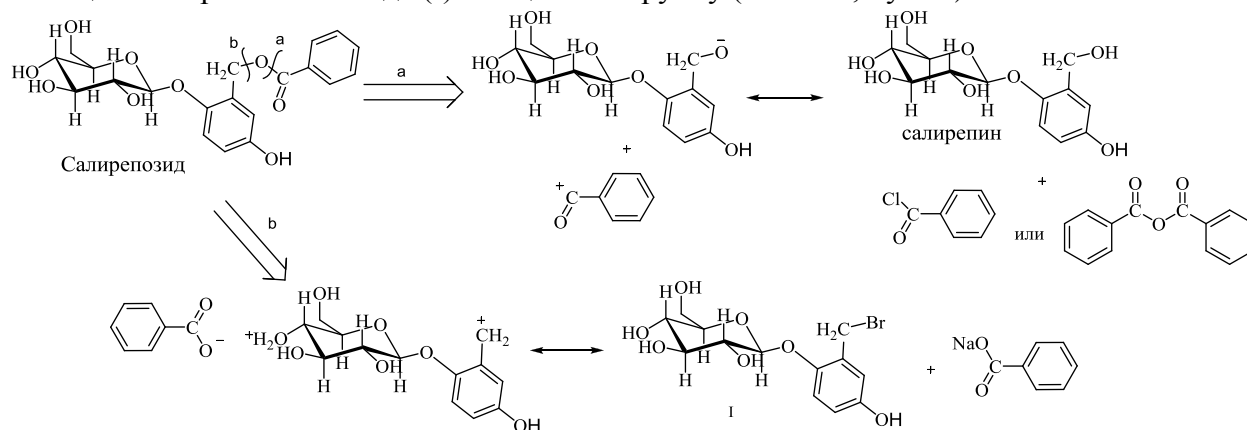


Схема 1 - Ретросинтетический анализ салирепозида

Промежуточные соединения могут быть получены из более простых веществ. Таким образом, в результате проведения ретросинтетического анализа, было определено, что для гликозидов, производных салирепина, наиболее простыми исходными веществами являются гидрохинон или пирокатехин и глюкоза, а для производных салицина – салициловый альдегид или *орто*-крезол и глюкоза. Во всех случаях ключевой стадией является снятие ацетильных групп таким образом, чтобы не произошел гидролиз бензоильной (в случае салирепозида) и не расщепилась гликозидная связь.

3.2 Получение 2-формилфенолов путем прямого формилирования по методу Даффа

Нами было установлено, что при формилировании по методу Даффа как бензодиолов без защитных групп, так и ацилированных по обеим гидроксигруппам, не удается получить нужные продукты. Получение целевых продуктов осуществимо только в том случае, если одна из гидроксигрупп защищена ацилированием.

Селективное *орто*-формилирование субстратов **21-24** проводили уротропином в среде трифторуксусной кислоты (Схема 2). При этом, несмотря на мягкие условия, наряду с образованием альдегидов **25-27** наблюдалось частичное снятие ацильных групп и образование незащищенных альдегидов. В качестве побочных продуктов в реакции образовывались также амины и незначительное количество диальдегидов, кроме того, во всех случаях наблюдалось интенсивное смолообразование.

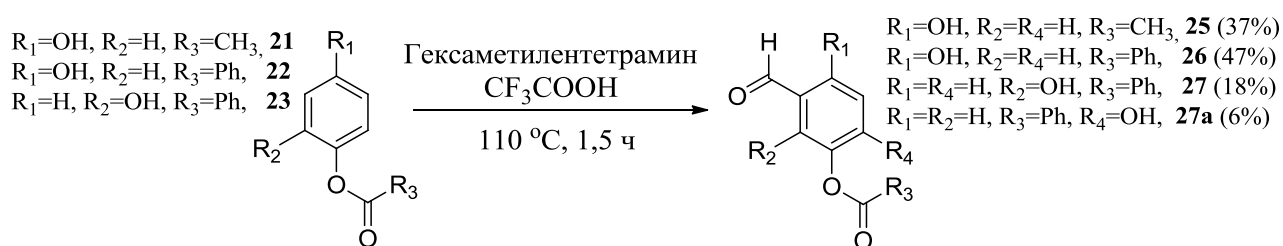


Схема 2 – Формилирование моноацилированных дифенолов

В случае 2-бензоилокси фенола **23** наблюдалось не только снятие бензоильной группы с образованием пирокатехового альдегида, но и образование значительного количества продукта *para*-формилирования (**27a**). По-видимому, это обусловлено его большей стерической и термодинамической предпочтительностью.

Некоторые из моноацетил и монобензоил альдегидов, синтезируемые в данной работе, были ранее получены синтетическим путем, однако, все эти методы предполагают наличие альдегидной группы и заключаются во введении или удалении ацильного остатка. Методом прямого формилирования данные соединения ранее получены не были.

3.3 Гликозилирование 2-формилфенолов

Основное препятствие в гликозилировании производных салициловых альдегидов представляет структура самих агликонов. В салициловых альдегидах *орто*-заместитель снижает пространственную доступность фенольного гидроксила, кроме того, прочная внутримолекулярная водородная связь уменьшает реакционную способность субстратов. Так, при гликозилировании салицилового альдегида в присутствии Et_2OBF_3 даже после 48 ч проведения реакции нам не удалось зафиксировать образование гликозида. Успешность гликозилирования зависит не только от строения субстрата, но и от применяемого метода. Так, при гликозилировании фенолов, содержащих ацетильные или бензоильные группы, метод **a** с применением гидроксида натрия в водно-ацетоновой смеси оказался неприемлемым (Схема 3), поскольку в этом случае в щелочной среде происходит гидролиз защитных ацильных групп, и в результате получается смесь продуктов гликозилирования по каждому из освободившихся фенольных гидроксильных групп, что требует дальнейшего их разделения и обуславливает низкие выходы (Таблица 2).

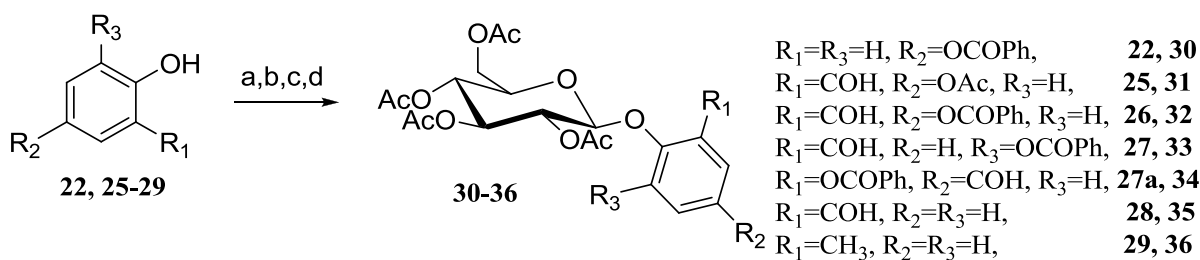


Схема 3 – Гликозилирование фенолов 2, 5-9 Способы получения: (а) ацетобромглюкоза (АБГ), NaOH р-р, ацетон, 18-24 ч., RT; (b) АБГ, Ag₂O, хиолин, 1 ч., RT; (c) АБГ, NaOH р-р, CHCl₃, бензил-трибутил аммоний бромид (БТБАБ), 4 ч., 62 °С; (d) β-D-пентаацетилглюкоза, полифосфорная кислота, 110 °С, 2 ч.

Таблица 2 – Условия и результаты реакции гликозилирования фенолов 22, 25-29

Гликозид	Исходный	Способ получения	Выход, %	Т.пл., °С
30	22	b	36	150-151
		a	7	150-151
31	25	b	45	144-145
32	26	a	1	124-125
		b	47	124-125
33	27	b	64	144-145
34	27a	b	42	157-158
35	28	a	22	136-137
		c	9	130-132
36	29	a	2	142-143
		c (ТБАБ)	15	143-144
		c (БТБАБ)	27	143-144
		d	7	140-141

Метод гликозилирования **b** с использованием оксида серебра и хиолина исключает водную среду, и оказался наиболее удобным для гликозилирования большинства субстратов, содержащих легко гидролизующиеся группы, и гликозиды **31-34** были получены с наиболее высокими выходами. Причем при гликозилировании фенола **27**, содержащего два *орто*-заместителя, был достигнут наиболее высокий выход (гликозид **33**, 64%). По-видимому, электронодонорные эффекты *орто*-заместителей обеспечивают его наибольшую основность и таким образом увеличивают реакционную способность молекулы, несмотря на стерическую затрудненность. Тем не менее, метод **b** имеет несколько недостатков: трудно разрушающиеся комплексы АБГ - хиолин - оксид серебра, использование гетерогенного катализатора, а также его высокая стоимость.

Поэтому, для гликозилирования стабильных фенолов, обладающих более простой структурой, без опасности разрушения лабильных ацилокси групп, мы использовали другие методы. Так, гликозид *орто*-крезола **36** с наибольшими выходами получался по методу **c** (в межфазных условиях). В то же время салициловый альдегид гликозилировался в данных условиях лишь с небольшим выходом (9%), по-видимому, на доступность фенолят-аниона для гликозидного донора влияет внутримолекулярная водородная связь, препятствующая переносу фенолята из водной фазы. Для гликозилирования салицилового альдегида наиболее оптимальным является метод **a**. Метод **d** оказался малоэффективным и пригодным только для самых простых фенолов.

Все полученные гликозиды имели β-конфигурацию гликозидного центра. Это устанавливалось на основании химических сдвигов глюкозных углеродов в спектре ЯМР ¹³C. Тем не менее, методом ГХ-МС было зафиксировано наличие α-аномеров гликозидов

35 и **36**, при получении их методами **a** и **d**, однако, образование α -гликозидов было незначительным, и они легко отделялись при перекристаллизации (контроль ГХ-МС).

3.4 Селективное восстановление альдегидных групп гликозидов

В полученных гликозидах мы восстанавливали альдегидную группу до спиртовой борогидридом натрия в двухфазной системе хлороформ-вода с использованием катализатора фазового переноса цетилтриметиламмония бромистого (ЦТМАБ) (Схема 4).

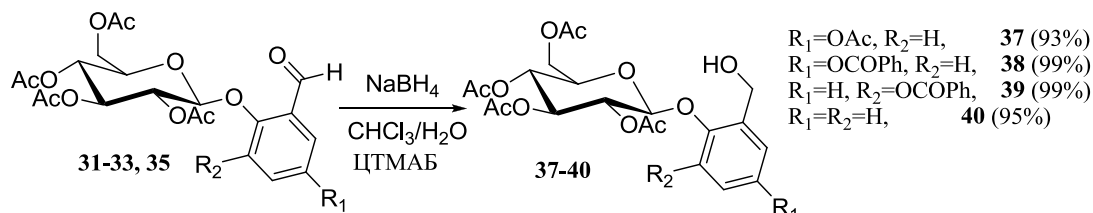


Схема 4 – Селективное восстановление гликозидов 11-13, 15.

В реакции нами не было зафиксировано гидролиза ацильных групп даже после 7 ч. Было установлено, что наиболее оптимальное количество ЦТМАБ – 0.4 %. При этом достигается полная конверсия альдегидной группы, и восстановленный гликозид извлекается с количественным выходом.

Спиртовая группа также может быть получена при модификации бромметилоновой группы. Промежуточное бромпроизводное **41** легко получается радикальным бромированием гликозида *орто*-крезола **36** (Схема 5), а последующее дегалогенирование с заменой брома на гидроксил осуществляется такими мягкими окислителями, как оксид серебра.

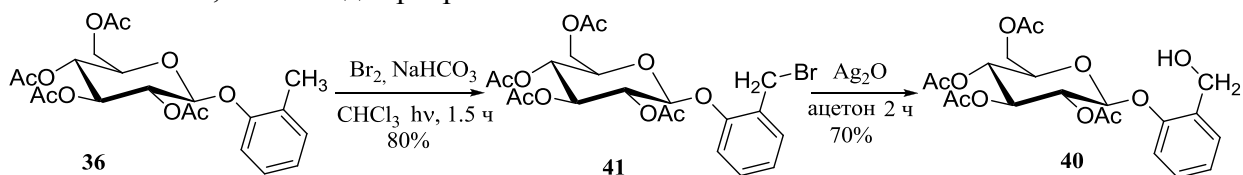


Схема 5 – получение гликозидов 41 и 40

3.5 Ацилирование фенолгликозидов

Для получения полных ацетатов ЭФГ, промежуточные соединения **37**, **38**, **40**, имеющие только один свободный гидроксил, ацилировали хлороангидридами соответствующих кислот (Схема 6, Таблица 3), а в гликозиде **41** замещали бром на ацилоксигруппу с получением производных гентизинового (42-49, 59) и салицилового спирта (50-58).

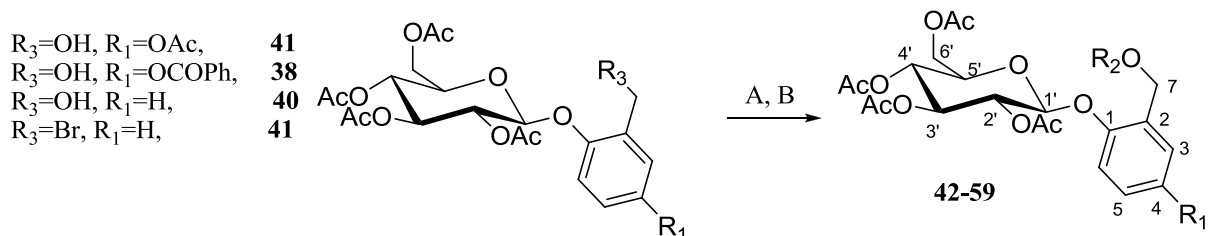
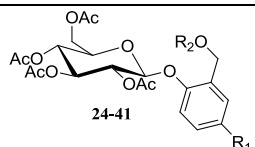


Схема 6 – Получение полных ацетатов фенолгликозидов путем введения ацильного остатка в гликозиды **37,38,40,41**

Таблица 3 – Результаты ацилирования гликозидов 37,38,40,41

№ соединения	Соединение	Исходный гликозид	Способ ацилирования (Выход, %)	Т.пл., °С
				
42	R ₁ =OAc, R ₂ =бензоил, (пентаацетил салирепозид)	37	A (53)	121-123
43	R ₁ =OAc, R ₂ =4-ацетоксициннамоил, (гексаацетил популозид А)	37	A (52)	93-94
44	R ₁ =OAc, R ₂ =3,4-диацетоксициннамоил, (гептаацетат кофеил-салирепина)	37	A (85)	156-159
45	R ₁ =OAc, R ₂ =2-ацетоксибензоил,	37	A (50)	103-104
46	R ₁ =OAc, R ₂ =4-ацетоксибензоил,	37	A (52)	113-114
47	R ₁ =OAc, R ₂ =3-метокси-4-ацетоксибензоил,	37	A (70)	74-76
48	R ₁ =OAc, R ₂ =3-метокси-4-ацетоксициннамоил,	37	A (60)	157-158
49	R ₁ =OAc, R ₂ =циннамоил,	37	A (40)	131-132
50	R ₁ =H, R ₂ =2-ацетоксибензоил, (пентаацетил салицилоил-салицин)	40, 41	A (59) B (65)	81-82
51	R ₁ =H, R ₂ =4-ацетоксициннамоил, (тетраацетил популозид В)	40	A (30)	123-124
52	R ₁ =H, R ₂ =3-метокси-4-ацетоксициннамоил, (пентаацетил популозид С)	40	A (55)	91-92
53	R ₁ =H, R ₂ =3,4-диацетоксициннамоил, (гексаацетат популозида)	40	A (78)	93-94
54	R ₁ =H, R ₂ =бензоил,	40	A (50)	82-83
55	R ₁ =H, R ₂ =4-ацетоксибензоил,	40	A (53)	136-137
56	R ₁ =H, R ₂ =3-метокси-4-ацетоксибензоил,	40	A (66)	122-124
57	R ₁ =H, R ₂ =циннамоил,	40, 41	A (52) B (65)	116-118
58	R ₁ =H, R ₂ =2-гидроксибензоил	41	B (60)	93-94
59	R ₁ =OCOPh, R ₂ =бензоил,	38	A (77)	134-135

Способ введения ацильного остатка: (А) ацилирование свободной гидроксигруппы хлорангидридом соответствующей кислоты: бензоилхлорид, 3,4-диацетокси циннамоилхлорид, 4-ацетокси-3-метокси циннамоилхлорид, 4-ацетокси циннамоилхлорид, циннамоилхлорид, 2-ацетоксибензоилхлорид, 3-метокси-4-ацетоксибензоилхлорид; (В) замещение атома брома бромметилоновой группы на ацилокси остаток соответствующей кислоты: коричная, салициловая, ацетилсалициловая

3.6 Селективное снятие защитных групп фенолгликозидов с получением сложных эфиров фенолгликозидов

3.6.1 Снятие защитных групп гликозидов с помощью метилата натрия в метаноле (по методике Земплена)

Методика дезацилирования гликозидов, предложенная Земпленим до сих пор широко применяется в гликозидном синтезе. При снятии ацильных групп метилатом натрия, быстро гидролизуются все сложноэфирные связи, и при этом гликозидная связь не разрушается. Так, почти количественно нами были получены гликозиды 7-8, 60-62 (Схема 7). При этом, однако, невозможно добиться какой-либо селективности.

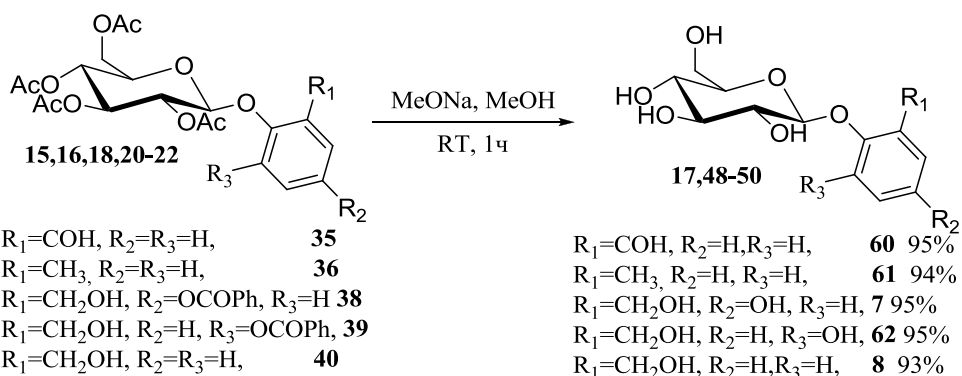


Схема 7 – Снятие защитных групп гликозидов по методике Земплена

3.6.2 Селективное снятие ацетильных групп гликозидов с сохранением других сложноэфирных групп

Для селективного снятия ацетильных групп 2-ацил фенолгликозидов мы применяли кислую среду, содержащую водный раствор HCl ($\rho = 1.18$ г/мл), EtOH (96%) и хлороформ в мольном соотношении HCl–гликозид 54:1 и концентрацией HCl в растворе 2.4 моль/л (объемное соотношение спирт-хлороформ 3:1). Данная система позволяет провести селективный гидролиз ацетильных групп в присутствии других ацильных групп, и нами были получены сложные эфиры фенолгликозидов **1-5, 9-20, 63-65** (Схема 8, Таблица 4). С довольно высокими выходами при дезацетилировании в предложенной системе были получены также гликозиды **60** и **61**, однако очевидно, что, метод Земплена для их получения все же более эффективен.

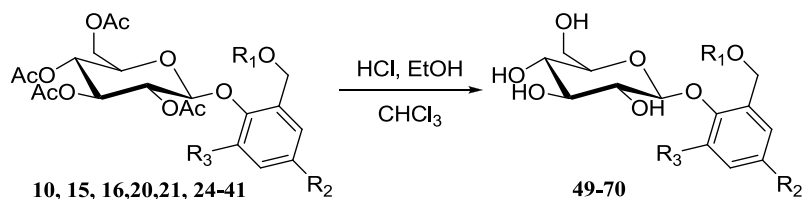


Схема 8 – Селективное снятие ацетильных групп гликозидов **30, 35, 36, 39, 42-59**

Таблица 4 – Результаты селективного снятия ацетильных групп гликозидов **30, 35, 36, 39, 42-59**

Исходный гликозид	Полученный гликозид, химическая формула	Полученный гликозид	Время реакции, ч	Температура реакции, °С	Выход, %	Общий выход на все стадии, начиная из фенолов %	Т.пл., °С
1	2	3	4	5	6	7	8
30	 Бензоил-арбутин	63	48	20	14	2.7	189-196
			13	30	30	5.8	
35	 Гелицин	60	21	20	75	16.5	175-176
36	 Гликозид орто-крезола	61	22	20	83	22.4	163-165
39	 Бензоил-идезин	64	23	20	57	4.7	146-148
42	$R_1 = \text{OCOPh}, R_2 = \text{H}$ (изо-салирепозид)	10	24	20	83	9.9	168-171

43	R ₁ =ОН, R ₂ =бензоил, (салирепозид)	4	48	20	71	4.9	206–207
44	R ₁ =ОН, R ₂ =4-гидроксициннамоил, (популозид А)	13	24	20	72	4.9	162–163
45	R ₁ =ОН, R ₂ =3,4-дигидроксициннамоил, (кофеоил-салирепин)	16	7	30	30	3.3	150-155
46	R ₁ =ОН, R ₂ =2-гидроксибензоил, (салицилоил-салирепин)	1	10	30	65	4.2	164-168
47	R ₁ =ОН, R ₂ =4-гидроксибензоил,	2	22	30	50	3.4	140
48	R ₁ =ОН, R ₂ =3-метокси-4-гидроксибензоил,	11	8	30	36	3.3	128-136
49	R ₁ =ОН, R ₂ =3-метокси-4-гидроксициннамоил,	17	24	20	48	3.7	99-100
50	R ₁ =ОН, R ₂ =циннамоил,	19	8	30	34	1.8	135-139
51	R ₁ =Н, R ₂ =2-гидроксибензоил, (салицилоил-салицин)	5	24	20	75	10.2	164-165
52	R ₁ =Н, R ₂ =4-гидроксициннамоил, (популозид В)	14	24	20	30	1.9	187–188
53	R ₁ =Н, R ₂ =3-метокси-4-гидроксициннамоил, (популозид С)	15	24	20	50	5.7	107–109
54	R ₁ =Н, R ₂ =3,4-дигидроксициннамоил, (популозид)	18	28	18	50	8.2	178-179
55	R ₁ =Н, R ₂ =бензоил, (дезоксисалирепозид)	9	48	20	85	8.9	149-150
56	R ₁ =Н, R ₂ =4-гидроксибензоил,	3	8	30	80	8.8	165-170
57	R ₁ =Н, R ₂ =3-метокси-4-гидроксибензоил,	12	8.5	30	35	4.8	173-177
58	R ₁ =Н, R ₂ =циннамоил,	20	8	30	40	4.3 (5.6)	110-112
59	R ₁ =ОСОPh, R ₂ =бензоил,	65	22	30	60	5.5	190-194

По-видимому, на стабильность сложных эфиров в условиях реакции в значительной степени влияет доступность карбонильной группы для протонирования и последующей атаки нуклеофилом. При использовании кислой среды существует опасность расщепления кислотолабильной гликозидной связи. Тем не менее, скорость гидролиза гликозидной связи оказалась намного меньше скорости гидролиза ацетильных групп. Так, при дезацетилировании тетраацетилгелицина **35** было установлено (ВЭЖХ, метод внутреннего стандарта), что расщепление гликозидной связи с освобождением салицилового альдегида проходит только на 0.12% за 21ч при 20 °С, при этом, все ацетильные группы успевают гидролизироваться.

3.7 Селективное снятие ацетильных групп гликозидов с получением 2'-О-ацетил гликозидов

При проведении реакции селективного снятия ацетильных групп гликозидов была замечена особенность, характерная для полных ацетатов 2-ацетилгликозидов. На Рис.3 на примере гидролиза пентаацетил-салирепозида **43** ($t_{уд.}$ 13.88 мин) представлен ВЭЖХ - анализ реакционной массы. Наблюдается последовательное снятие пяти присутствующих в молекуле ацетильных групп. В реакции нет каких-либо предпочтительно образующихся ди- и триацетатов, и выделить индивидуальные соединения нам не удалось из-за их химической и хроматографической схожести.

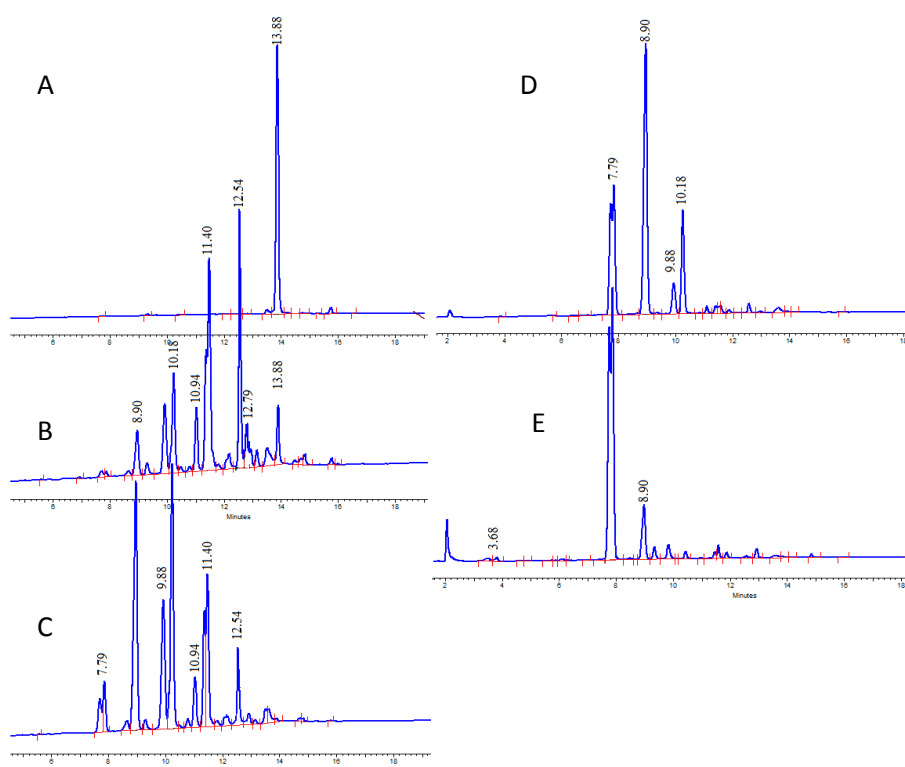


Рисунок 3 - ВЭЖХ анализ реакции гидролиза пентаацетилсалирепозида 43 при 16 °С А – 0ч, В – 1ч, С – 2ч, D – 4.5ч, E – 30ч.

Тем не менее, было замечено, что в реакционной массе долгое время присутствует только одно производное салирепозида с одной ацетильной группой ($t_{уд.}$ 8.90 мин.), с наименьшей скоростью подвергающееся гидролизу. Нам удалось легко выделить гликозид, содержащий одну ацетильную группу и установить его структуру (см. раздел 3.7.1, 3.7.2).. Такое же поведение 2'-О-ацетильной группы было замечено и в случае других 2-ацетилгликозидов, и нами были получены моноацетил производные **66-74** (Схема 9, Таблица 5).

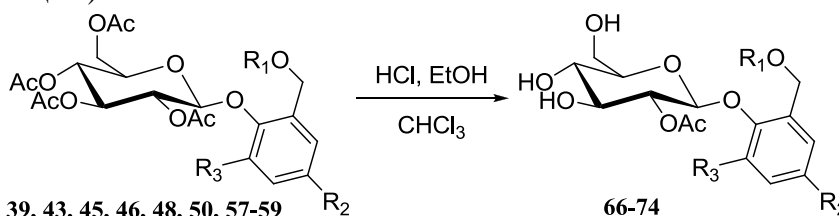


Схема 9 – Получение 2'-О-ацетил гликозидов **66-74**

Таблица 5 – Результаты получения 2'-О-ацетил гликозидов **66-74**

Исходный гликозид	Полученный гликозид, химическая формула	Полученный гликозид	Время реакции, ч	Температура реакции, °С	Выход, %	Т.пл., °С (Лит., °С)
	 72-79					
1	2	3	4	5	6	7
39	Бензоил-идезин 	66	23	20		
43	R ₁ =ОН, R ₂ =бензоил,	67	48	20	40	192-194
45	R ₁ =ОН, R ₂ =3,4-дигидроксициннамоил,	68	7	30	25	150-155
46	R ₁ =ОН, R ₂ =2-гидроксибензоил,	69	10	30	11	189-198

48	R ₁ =OH, R ₂ =3-метокси-4-гидроксибензоил,	70	8	30	20	169-175
50	R ₁ =OH, R ₂ =циннамоил,	71	8	30	12	174-176
57	R ₁ =H, R ₂ =3-метокси-4-гидроксибензоил,	72	8.5	30	20	136-137
58	R ₁ =H, R ₂ =циннамоил,	73	8	30	24	165-170
59	R ₁ =OCOPh, R ₂ =бензоил,	74	22	30	11	212-215

Таким образом, можно утверждать, что при гидролизе ацетильных групп, в глюкозном остатке салирепозидов одна из них является наименее активной к гидролизу, что может быть обусловлено как термодинамическими, так и кинетическими факторами. Проведение этой же реакции с полными ацетатами гликозидов **35**, **36** не выявило повышенной стабильности 2'-О-ацетильной группы. По-видимому, именно пространственные и электронные эффекты 2-ацетилгруппы агликона обуславливают экранирование ацетильной группы во втором положении глюкозы, значительно замедляя ее гидролиз.

3.7.1 Установление структуры моноацетилпроизводного салирепозидов

Положение ацетильной группы в глюкозном остатке устанавливали методом ЯМР-спектроскопии. При сравнении ¹³C- спектров моноацетата салирепозидов **67**, салирепозидов **4** и его полного ацетата **43**, а также при сравнении с данными, полученными для соединений, содержащих ацильные группы в 2'-положении глюкозы, приведенными в литературе. Более детальное рассмотрение COSY, HMBC (Рис. 4), ROESY спектров моноацетил-салирепозидов **67** позволило подтвердить положение ацетильной группы у 2'-гидроксила глюкозного остатка.

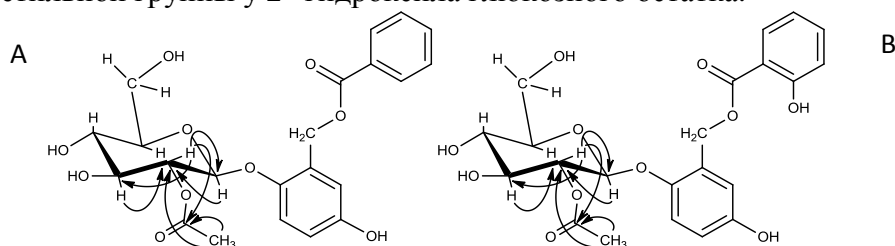


Рисунок 4 – HMBC анализ 2'-О-ацетил-салирепозидов **67** (A) и 2'-О-ацетил-салицилоил-салирепина **69** (B)

В масс-спектрах TMS- производных 2'-О-ацетилглюкопиранозидов (Рис.5) наблюдается образование характерного иона 289, обладающего наибольшей интенсивностью. На примере TMS- производного 2'-О-ацетилсалирепозидов **67** нами был предложен следующий путь фрагментации гликозидов (Схема 10).

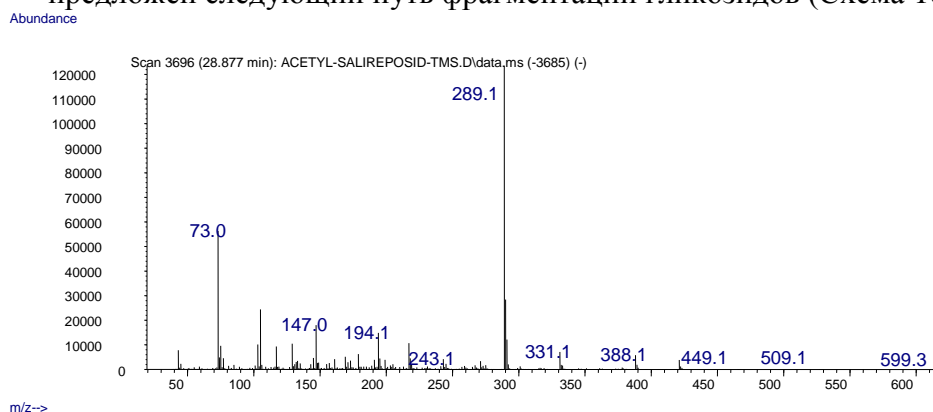


Рисунок 5 – Масс-спектр 2'-О-ацетил-салирепозидов **72**

Под действием электронного удара наиболее характерный для большинства гликозидов распад – расщепление гликозидной связи с образованием глюкозоксониевого иона, в данном случае ацетил-три(триметилсилил)глюкозоксониевого иона m/e 421, имеющего небольшую интенсивность в спектрах масс - фрагментации. Последующая фрагментация сопровождается потерей одной группы TMSOH (90) и кетена (42). Потеря кетена ($\text{CH}_2=\text{C}=\text{O}$) является характерной для масс - фрагментации ацетил - производных гликозидов, таким образом, получается фрагмент m/e 289.

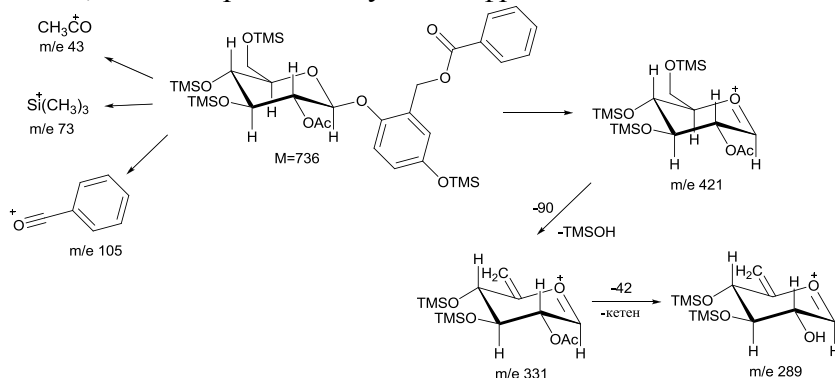


Схема 10 – Характер фрагментации 2'-О-ацетил салирепозида **67**

Было установлено, что в тех случаях, когда ацетильная группа в глюкозном остатке находится в других положениях, ион 289 в масс-спектрах малоинтенсивен, или не проявляется вовсе. Так, при попытке селективного снятия ацетильных групп тетраацетилсалицина **40**, была получена смесь моноацетилпроизводных (за счет основно-катализируемой миграции ацетильной группы), как было установлено методом ЯМР, являющихся 6'-О-ацетилсалицином **75** и 4'-О-салицином **76**. В масс-спектрах этих соединений ион 289 не наблюдается (Рис. 6), вместо этого, ионы 361 и 271 являются наиболее интенсивными. Ион 361 соответствует потере не кетена, а АсОН (60) в глюкозоксониевом ионе, а ион 271 – последующей потере TMSOH (90).

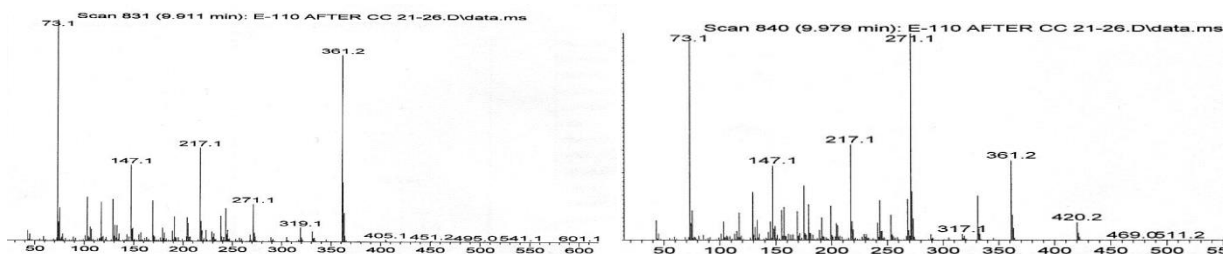


Рисунок 6 - Масс-спектры 6'-О-ацетил-салицина **75** и 4'-О-ацетил- салицина **76**

Следовательно, характер распада глюкозоксониевого иона значительно изменяется в зависимости от положения ацетильной группы. Ион 289 в спектрах масс - фрагментации гликозидов является специфическим маркером 2'-О-ацетильной группы.

Таким образом, нами впервые были получены 2'-О-ацетил фенолгликозиды. Несмотря на невысокие выходы моноацетилпроизводного (Таблица 4), предложенная нами методика обладает значительными преимуществами: одностадийность процесса, использование в качестве субстратов для гидролиза полных ацетатов гликозидов, которые могут быть получены не только синтетическим путем, описанным в данной работе, но также из природных гликозидов путем их ацетилирования. Образование только одного моноацетата значительно упрощает его выделение, т.к. разделение изомерных соединений, содержащих ацетильные группы в разных положениях в глюкозной части представляет определенную сложность. Другим основным продуктом в исследуемой реакции являются полностью дезацетилированные гликозиды, и в случае

необходимости, они могут быть направлены в повторный цикл ацетилирования – деацетилирования.

3.7.2 Исследование реакции селективного снятия ацетильных групп на примере салирепозида. Расчеты термодинамических параметров реакции гидролиза

Для определения оптимальных параметров реакции селективного снятия ацетильных групп исследовалась кинетика гидролиза действием найденной системы HCl/EtOH/CHCl₃ (Рис. 7).

Исследование кинетики реакции показало, что в первые часы происходит быстрое исчезновение исходного пентаацетата **43** и медленное накопление продукта без ацетильных групп **4**. В то же время, продукт гидролиза, содержащий одну ацетильную группу **67**, быстро накапливается, достигая максимальной концентрации к 32 ч. (при 16 °С), и затем медленно расходуется в реакции. Кроме того, после определенного времени (100 ч.), наблюдается значительный гидролиз бензоильной группы с получением салирепина.

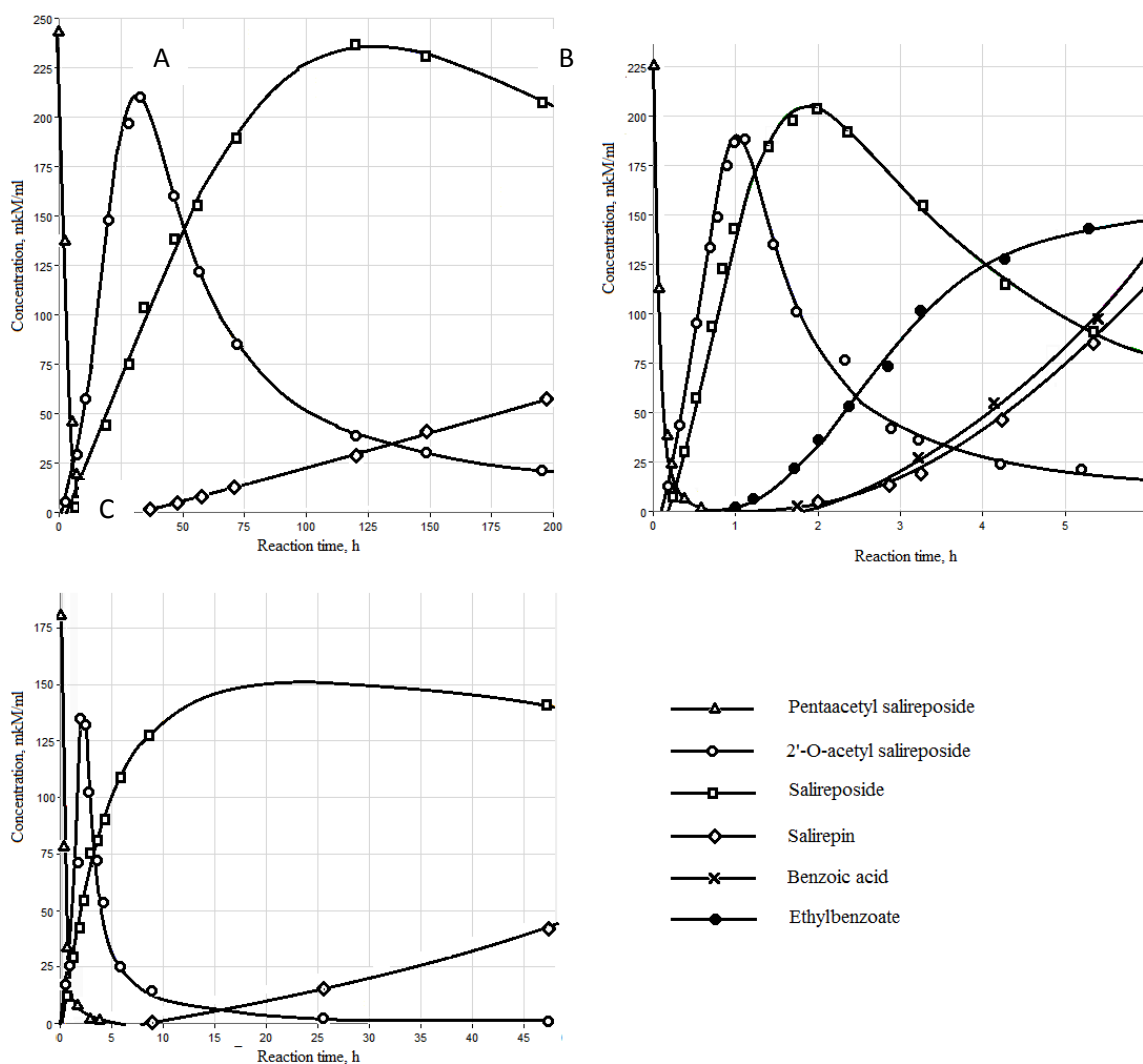


Рисунок 7 - Кинетические кривые реакции снятия ацетильных групп пентаацетилсалирепозида **43**, 16 °С (А), 30 °С (В), 50 °С (С). Концентрацию веществ в реакционной массе определяли методом ВЭЖХ при сравнении с предварительно построенными калибровочными графиками по каждому веществу.

Нами были определены константы скорости гидролиза 2'-О-ацетильной и бензоильной группы, принимая, что гидролиз является реакцией псевдопервого порядка, т.к. концентрации протонов, воды и этанола, взяты в большом избытке. Согласно расчетам (Таблица 6), максимальное различие в скоростях гидролиза наблюдается при 30°C (константа скорости гидролиза ацетильной группы в 6.6 раз превосходит константу скорости гидролиза бензоильной).

Таблица 6 – Результаты расчетов скоростей реакции гидролиза 2'-О-ацетильной группы и бензоильной группы салирепозида при различных температурах

Температура реакции, °C	16	30	50
Константа скорости гидролиза 2'-О-ацетильной группы	0.0162 ч ⁻¹	0.2923 ч ⁻¹	0.704ч ⁻¹
Константа скорости гидролиза бензоильной группы	0.0110 ч ⁻¹	0,0444 ч ⁻¹	0,699 ч ⁻¹

Нами было установлено, что наиболее оптимальными условиями для получения 2'-О-ацетил салирепозида **67** является проведение реакции при 30 °C в течение 3 ч. Также удобно получать салирепозид **4** без ацетильных групп при этой же температуре. При выдерживании реакции в течении 15 ч. происходит полный гидролиз всех ацетильных групп и салирепозид накапливается в максимальной концентрации, а гидролиз бензоильной группы незначителен.

Используя хроматографические данные, полученные методами ВЭЖХ и ВЭЖХ-МС для реакции гидролиза ацетильных групп пентаацетил-салирепозида **43**, мы можем предположить наиболее вероятные пути последовательного гидролиза ацетильных групп в молекуле (Схема 11). Так, первоначально образуется два продукта с одним гидроксилом, наиболее вероятно, что эти продукты образуются при гидролизе 6'-О- и фенольной ацетоксигруппы.

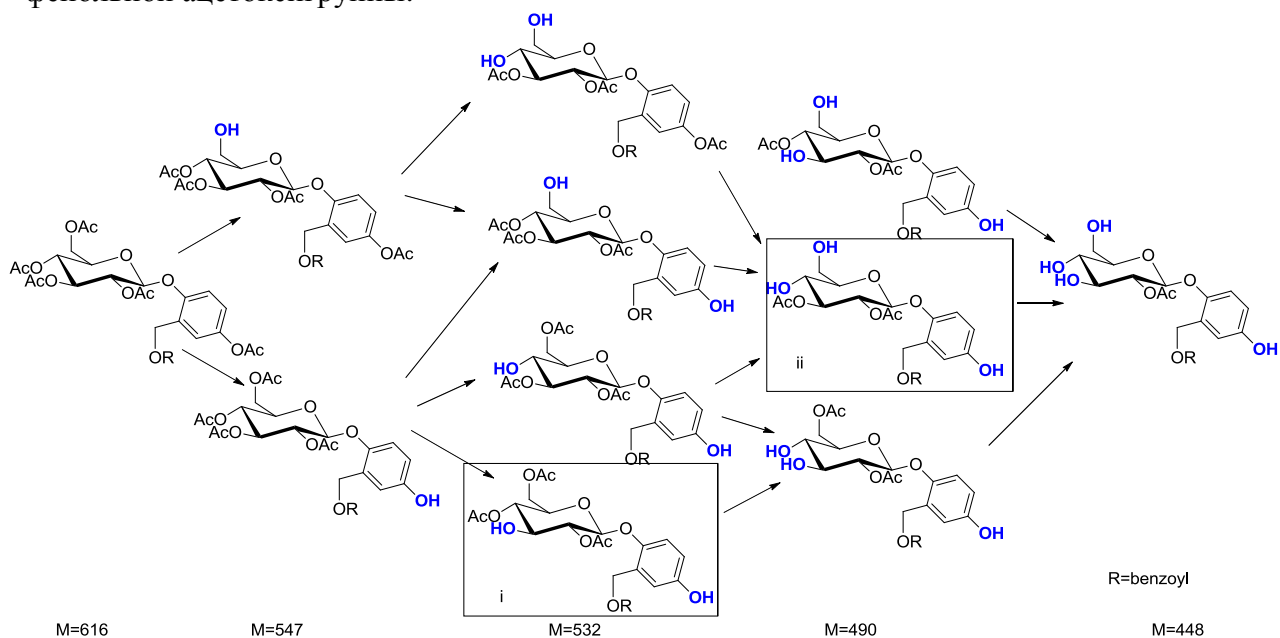


Схема 11 – Предполагаемые пути гидролиза ацетильных групп пенаацетилсалирепозида **43**

Продукты последующего снятия ацетильной группы в двух первоначально образующихся тетраацетатах проследить сложно. Установлено, что при снятии двух ацетильных групп образуется 4 изомерных продукта, причем, один из них (i) является минорным, а при снятии еще одной ацетильной группы образуется только три

изомерных диацетата, один из которых, предположительно, (ii) накапливается в большем количестве. Далее, при гидролизе еще одной ацетильной группы образуется только один моноацетат.

3.8 Получение гликозидов сложных эфиров гидроксibenзойных кислот: трихокарпин и дезокситрихокарпин

В данной работе нами были получены гликозиды, содержащие в качестве агликона бензиловые эфиры гидроксibenзойных кислот. К ним относятся природный гликозид трихокарпин **6** и его аналог, не обнаруженный в растениях, *дезокси*-трихокарпин **82**. Мы установили, что в синтезе гликозидов такой структуры удобнее сначала получить агликон, и затем его гликозировать, а не наоборот (Схема 12).

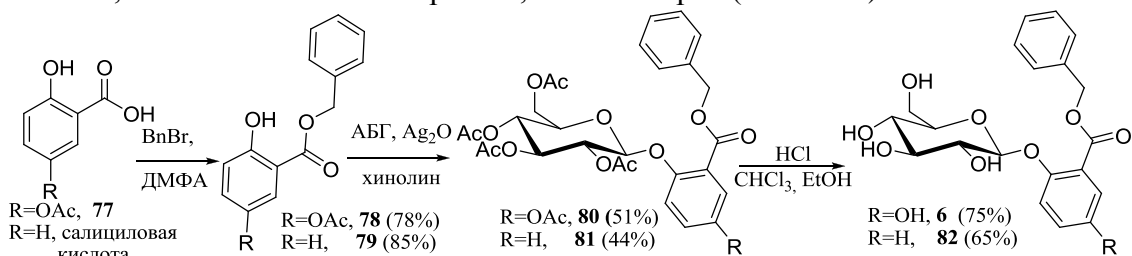


Схема 12 – Полный синтез трихокарпина и дезокситрихокарпина

Физико-химические характеристики трихокарпина **6** и его ацетата **80** совпадают с таковыми природного трихокарпина, выделенного из *P. trichocarpa*, приведенными в литературе [Tieme 1970].

По результатам выполненной работы были сделаны следующие выводы:

1. Найден общий синтетический подход, позволяющий получить ранее недоступные сложные эфиры фенолгликозидов
2. Впервые синтетическим путем получено **7** природных 2-ацил фенолгликозидов, содержащих остатки бензойных или коричных кислот
3. Впервые синтезировано **12** новых 2-ацил фенолгликозидов, ранее не описанных в литературе и не найденных в природных источниках
4. Впервые получены ацилоксипроизводные салициловых альдегидов по реакции прямого формилирования
5. Предложен удобный метод снятия ацетильных групп в углеводах с сохранением других ацильных групп: бензоильных и циннамоильных и без расщепления гликозидной связи
6. Установлены оптимальные условия реакции селективного дезацетилирования сложных эфиров фенолгликозидов на примере пентаацетилсалирепозида, и установлена различная реакционная способность ацетильных групп, что является результатом влияния стерических факторов. Предложен способ получения труднодоступных 2'-О-ацетилгликопиранозидов путем частичного гидролиза их полных ацетатов и впервые получено **9** новых (2'-О-ацетил) 2-ацил фенолгликозидов
7. Методами ТСХ, ГХ-МС, ВЭЖХ и ЯМР исследован гликозидный состав экстракта коры осины и обнаружено 15 новых фенолгликозидов

Автор выражает глубокую благодарность доценту кафедры БИОХ М.Л.Белянину за помощь в работе и плодотворные идеи.

Основные содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Stepanova E.V. First total chemical synthesis of natural acyl derivatives of some phenolglycosides of the family *Salicaceae* / Belyanin, M.L., Stepanova, E.V., Ogorodnikov, V.D. // *Carbohydr. Res.*, 2012. – V. 363. – P. 66–72.
2. Степанова Е.В., Полный синтез природного фенолгликозида салицилоил-салицина и его аналога салицилоил-салирепина / Степанова Е.В., Белянин М.Л. // *Фундаментальные исследования*. - 2013 - №. 8-3. - С. 736-740
3. Stepanova E.V. Synthesis of acyl derivatives of salicin, salirepin, and arbutin / Stepanova, E.V., Belyanin, M.L., Filimonov, V.D. // *Carbohydr. Res.*, 2014. – V. 388. – P. 105–111.
4. Степанова Е.В. Полный синтез природного фенолгликозида салицилоил-салицина и его аналога салицилоил-салирепина. // *Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулёва студентов и молодых ученых с международным участием: в 2 т., Томск, 13-16 Мая 2013.* - Томск: ТПУ, 2013 - Т. 1 - С. 181-183
5. Степанова Е.В. Синтез природных фенолгликозидов растений семейства *Flacourtiaceae* идезина и бензоил-идезина и проверка содержания этих гликозидов в растениях семейства *Salicaceae* // *Перспективы развития фундаментальных наук: сборник научных трудов X Международной конференции студентов и молодых ученых, Томск, 23-26 Апреля 2013.* - Томск: ТПУ, 2013 - С. 457-459
6. Степанова Е.В. Полный химический синтез фенолгликозидов растений семейства *Salicaceae* и их химическая модификация. / Степанова Е.В., Белянин М.Л. // *Кластер конференций по органической химии "ОргХим - 2013": тезисы докладов, Санкт-Петербург, 17-21 Июня 2013.* - СПб: СПбГУ, 2013 - С. 382
7. Степанова Е.В. Ацилированные фенолгликозиды *Populus tremula* / Степанова Е.В., Белянин М.Л. // *Кластер конференций по органической химии "ОргХим - 2013": тезисы докладов, Санкт-Петербург, 17-21 Июня 2013.* - СПб: СПбГУ, 2013 - С. 423-424
8. Степанова Е.В. Синтез природных фенолгликозидов, обладающих потенциальной противоописторхозной активностью / Степанова Е.В., Белянин М.Л. // *Химия и медицина: тезисы докладов IX Всероссийской конференции с молодежной научной школой по органической химии, Уфа, 4-8 Июня 2013.* - Уфа: БашГУ, 2013 - С. 290
9. Степанова Е.В. Синтез 2-ацилоксипроизводных фенолгликозидов растений семейства ивовые / Степанова Е.В., Белянин М.Л. // *II Международная Казахстанско-Российская конференция по химии и химической технологии, посвященная 40-летию КарГУ имени академика Е.А. Букетова: Материалы: в 2 т., Караганда, 28 Февраля-2 Марта 2012.* - Караганда: КарГУ, 2012 - Т. 1 - С. 468-470
10. Степанова Е.В. Синтез некоторых природных фенолгликозидов / Степанова Е.В., Белянин М.Л. // *Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулева студентов и молодых ученых с международным участием: в 2 т., Томск, 14-17 Мая 2012.* - Томск: ТПУ, 2012 - Т. 1 - С. 204-206
11. Stepanova E.V. Synthesis of Some Natural Phenolglycosides // *Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулева студентов и молодых ученых с международным участием: в 2 т., Томск, 14-17 Мая 2012.* - Томск: ТПУ, 2012 - Т. 2 - С. 307-308
12. Степанова Е.В. Синтез природных фенолгликозидов / Степанова Е.В., Белянин М.Л. // *Успехи синтеза и комплексообразования: Тезисы докладов II Всероссийской научной конференции (с международным участием) к 95-летию со дня рождения Н.С. Простакова, Москва, 23-27 Апреля 2012.* - Москва: РУДН, 2012 - Т. 1 - С. 78

13. Степанова Е.В. Синтез фенольных гликозидов / Степанова Е.В., Белянин М.Л. // Актуальные проблемы органической химии: Сборник тезисов всероссийской молодежной научной конференции, Новосибирск, 9-14 Июля 2012. - Новосибирск: НГУ, 2012 - С. 102
14. Степанова Е.В. Синтез феногликозидов производных 2-ацилокси салицилового спирта // Химия и химическая технология в XXI веке: Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием: 2 т., Томск, 11-13 Мая 2011. - Томск: ТПУ, 2011 - Т. 1 - С. 202-204
15. Stepanova E.V. Studies on the bark of *Populus tremula* / Stepanova E.V., Belyanin, M.L. // Материалы Международной конференции «Возобновляемые лесные и растительные ресурсы: химия, технология, фармакология, медицина». – Санкт-Петербург, 2011, 314 с. С. 274-275
16. Степанова Е.В. Разработка синтетических путей получения фенолгликозидов / Степанова Е.В., Белянин М.Л. //Актуальные проблемы органической химии: XIII молодежная школа-конференция - Новосибирск, 12-19 сентября 2010. - Новосибирск: НИОХ СО РАН, 2010. - с. 168
17. Степанова Е.В. Разработка синтетических подходов к получению фенолгликозидов семейства ивовых. / Степанова Е.В., Белянин М.Л. // Всероссийский конкурс научно-исследовательских работ бакалавров в области химии: сборник тезисов докладов - Уфа, 7-9 ноября 2010. - Уфа: БашГУ, 2010. - с. 92
18. Степанова Е.В. Синтез фенолгликозида коры осины- салирепина. //Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XI Всероссийской научно-практической конференции студентов и аспирантов - Томск, ТПУ, 12-14 мая 2010. - Томск: Изд. ТПУ, 2010. – Т1 с. 258-260
19. Stepanova E.V. Synthesis of Natural Phenolglycoside – Salirepin //Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XI Всероссийской научно-практической конференции студентов и аспирантов - Томск, ТПУ, 12-14 мая 2010. - Томск: Изд. ТПУ, 2010. – Т2 с. 258-259