



УДК 547.572.3.052

## АРИЛСОДЕРЖАЩИЕ АНАЛОГИ ПОЛНОСТЬЮ ТРАНС- И ЦИС-РЕТИНАЛЯ И ИХ НЕКОВАЛЕНТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ С БАКТЕРИООПСИНОМ

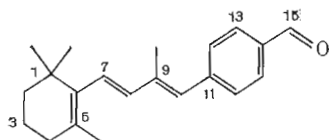
Еремин С. В., Мицнер Б. И., Звонкова Е. Н.,  
Езстигнева Р. П.

Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

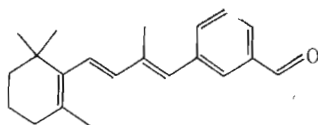
Описан синтез арилполиеналяей — 1,1,3-триметил-2-[3-метил-4-(3- или 4-формил-фенил)бута-1Е,3Е-диенил]циклогекс-2-ен и 1,1,3-триметил-2-[3-метил-6-(2-формил-фенил)гекс-1Е,3Е,6Е-триенил]циклогекс-2-ен — аналогов полностью-транс- и 13-цис-ретиная, у которых сопряжение между альдегидной группой и полиеновой цепью осуществляется через бензольное кольцо. Показано, что эти альдегиды при реакции с бактериоопсином образуют не хромопротенды, а нековалентные комплексы.

Простетической группой хромопротенда бактериородопсина из пурпурных мембран *Halobacterium halobium* является ретинаяль (альдегид витамина А), образующий протонированный альдимин с ε-аминогруппой остатка Lys<sup>216</sup> полипептидной цепи [1]. Функционирование бактериородопсина как светозависимой протонной транслоказы сопряжено с 13-транс ⇌ 13-цис-изомеризацией его хромоформной группы [2–4]. Правильность этого положения подтверждается, в частности, использованием полиеновых альдегидов — структурных аналогов ретинаяля, для которых указанная изомеризация исключается (табл. 1). Из рассмотрения представленных данных видно, что только аналоги (№ 1–3) способны формировать с бактериоопсином искусственные хромопротенды. Значения их максимумов поглощения свидетельствуют о достаточно хорошем соответствии структуры модифицированной полиеновой цепи ее белковому окружению (λ<sub>макс</sub> бактериородопсина: адаптированная к темноте форма — 558 нм, к свету — 568 нм). Однако эти аналоги бактериородопсина оказались неспособными ни к фотоиндуцированной последовательности фотохимических превращений, ни к светозависимому транспорту протонов. Остальные полиеналя (№ 4–8), в молекулу которых включены тиофеновое, пирольное или бензольное кольца, образуют с бактериоопсином только нековалентные комплексы, неспособные к дальнейшему формированию протонированной альдиминной связи. Следует отметить, что рассмотрение молекулярных моделей свидетельствует о близком подобии указанных соединений (№ 4–8) ретинаялю и целому ряду его аналогов, способных к образованию хромопротендов (см. сводку данных в [3]). Одним из вероятных объяснений этого явления может быть предполагаемое снижение значения рК и устойчивости такого альдимина (из-за сильного электронодонорного эффекта циклической системы, сопряженной с альдегидной группой).

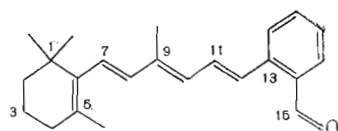
Для проверки высказанного предположения нами синтезированы аналоги ретинаяля (I)–(III), у которых сопряжение между альдегидной группой и полиеновой цепью осуществляется через бензольное кольцо. При этом взаимное расположение этих заместителей характеризуется как *п*-, *м*- и *о*-замещение (I)–(III) соответственно.



(I)



(II)



(III)

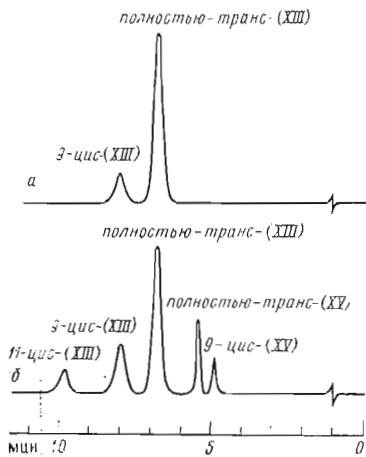


Рис. 1

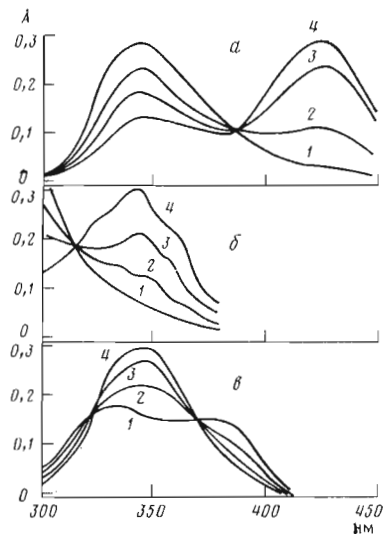


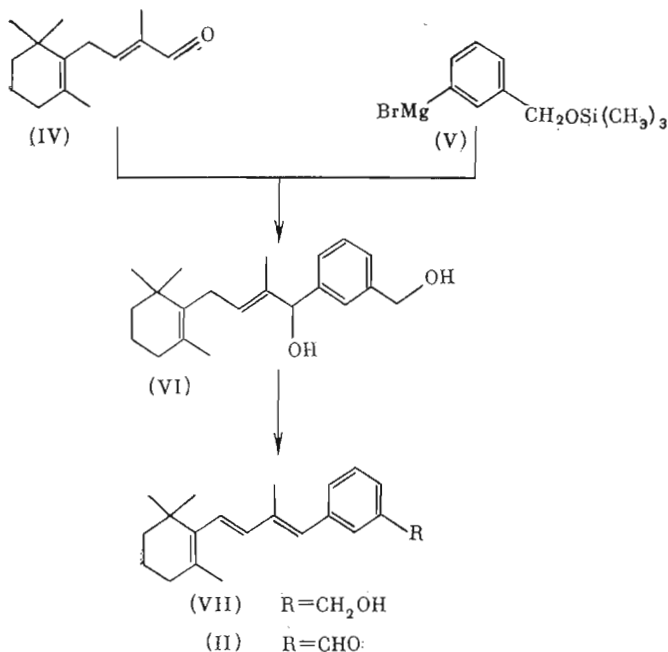
Рис. 2

Рис. 1. Состав продукта реакции при получении спирта (XIII) из диола (XII) дегидратацией  $\text{HBr}$  (а) и из ацетиленового спирта (XV) восстановлением  $\text{LiAlH}_4$  (б). Элюент — 15% эфира в гексане, детектор — рефрактометр Кнауер (ФРГ), скорость элюента 2,5 мл/мин, колонка с силикагелем Армсорб (СССР)

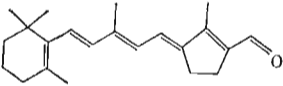
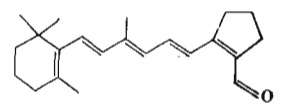
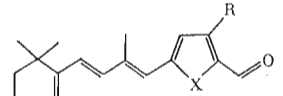
Рис. 2. Взаимодействие бактериоопсина в составе апомембран (см. текст) с альдегидами (I) — (III) — а-в соответственно. Концентрация мембран  $3,5 \cdot 10^{-5}$  М ( $\text{MES } 5 \cdot 10^{-2}$  М,  $\text{EDTA-Na}_2 \ 5 \cdot 10^{-3}$  М, рН 6,5), концентрация аналогов  $4,2 \cdot 10^{-5}$  М. Аналоги прибавляли в виде аликвоты в диоксане, конечное содержание диоксана в суспензии апомембран не превышало 5%. 1 — исходный спектр сразу после добавления альдегида, 2—4 — спектры, полученные спустя 20 мин, 1 ч, 24 ч соответственно

В частности, общая длина полиеновой цепи альдегида ((I), № 7 в табл. 1), синтезированного нами ранее, соответствует цепи *полностью-транс*-ретиная в  $14s$ -*цис*-конформации, а структурная близость соединения (III) и аналога ретиваля (№ 2, табл. 1) очевидны. *m*-Производное (II) синтезировали по схеме 1, ранее использованной нами для синтеза альдегида (I) [9].

Схема 1



Свойства аналогов ретиналя, неспособных к изомеризации, их протонированных альдегидов с *n*-бутиламином и продуктов взаимодействия с бактериоопсином \*

№ п. п.	Аналог	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм **				Наличие фотоцикла	Транспорт протонов	Температура
		альдегид	протонированный альдегид	нековалентный комплекс	хромопротенд			
1		—	—	420, 443, 470	576	—	O	[2]
2		366 (б)	440	395, 422, 440	547	P	O	[2]
3	 X=O, R=H	233, 357 (б) 375 (а)	— 436	435 —	565 565	P H	11% O	[5, 6] [7]
4	X=NH; R=H	356	—	407, 427	H	H	H	[8]
5	X=NCH <sub>3</sub> ; R=H	351	—	399, 424	H	H	H	[8]
6	X=S; R=H	377	—	430	H	H	H	[8]
7	X=CH=CH; R=H	337	—	428	H	H	H	[8]
8	X=NH; R=CH <sub>3</sub>	336 362	390 —	425 *** 400, 423	H H	H H	H H	[9] [8]

\* Обозначения в таблице: «—» — нет данных, «P» — разрушение пигмента при освещении, «H» — отсутствие фотоцикла или хромопротенда, «O» — отсутствие транспорта протонов.

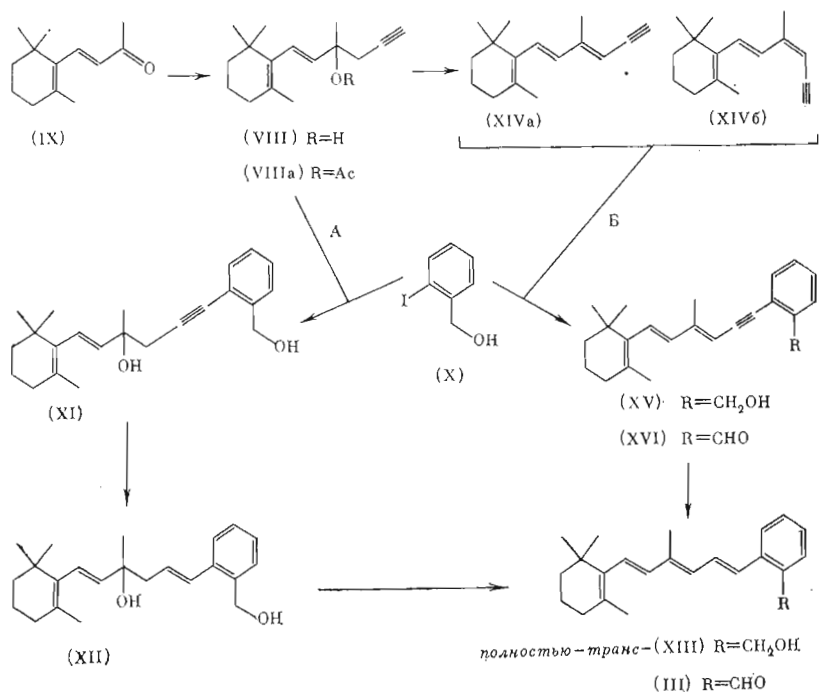
\*\* Спектры поглощения аналогов ретиналя получены в метаноле, если нет других указаний, либо в этаноле (а) или изопропаноле (б).

\*\*\* Данные настоящей работы.

Конденсацией альдегида  $\beta$ -C<sub>14</sub> (IV) с реактивом Гриньяра (V), полученным из триметилсилильного производного *m*-бромбензильного спирта, синтезировали диол (VI), который далее подвергали дегидратации в толуоле в присутствии каталитических количеств *n*-толуолсульфокислоты (TosOH) с количественным образованием спирта (VII). Целевой альдегид (II) был получен окислением аналога ретинала (VII) диоксидом марганца. В данном случае это превращение протекало строго направленно и не сопровождалось ароматизацией триметилциклогексенового кольца, зафиксированной нами в процессе синтеза соединения (I) [9].

Для получения 13-деметил-13,14-бута-1,3-диеноретиналя (III) по схеме C<sub>16</sub>+C<sub>7</sub> нами была изучена возможность применения реакции этилирования подпроизводных ароматических соединений в присутствии комплексов переходных металлов и соединений меди [10] (схема 2)

В качестве фрагмента C<sub>16</sub> мы использовали 9-(2-пропиль)- $\beta$ -ионил (VIII), который получали с высоким выходом взаимодействием  $\beta$ -ионона (IX) с пропаргилмагнийбромидом по известному методу [11]. Конденсация ацетиленового карбинола (VIII) с *o*-подбензильным спиртом (X) в присутствии бис(трифенилфосфин)палладийдидбромида и Si<sub>2</sub>I<sub>2</sub> с выходом 57% приводила к диолу (XI). Тройную связь в последнем восстанавливали до *транс*-двойной действием LiAlH<sub>4</sub> в тетрагидрофуране. Стереоселективность восстановления подтверждали данными ВЭЖХ и <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии. Полученный таким образом диол (XII) подвергали далее дегидратации. Как было установлено, проведение этой реакции кипячением в толуоле в присутствии TosOH дает аналог ретинала (XIII) в виде эквимолярной смеси 9-*транс*- и 9-*цис*-изомеров, в то время как катализ



указанного превращения с помощью  $\text{NBr}$  повышает содержание 9-*транс*-изомера в смеси до 75% (рис. 1).

Выделенный после хроматографического разделения гомогенный 9-*транс*-изомер спирта (XIII) переводили в целевой альдегид (III) действием  $\text{MnO}_2$ . Следует отметить, что целесообразность разделения геометрических изомеров синтезируемых веществ на стадии спиртов (XIII) обусловлена незначительной разницей в хроматографической подвижности соответствующих 9-*транс*- и 9-*цис*-изомеров альдегидов (III). Удовлетворительного разделения последних не удалось добиться даже с помощью высокоэффективной ТСХ. Поэтому вывод об отсутствии структурной и стереоизомеризации на стадии превращения спирта (XIII) в соответствующий альдегид (III) был сделан на основании данных  $^1\text{H-NMR}$ -спектроскопии.

Нами исследован также альтернативный вариант (Б) получения альдегида (III) (схема 2), включающий использование 3-( $\beta$ -ионилиден)пропина (XIVa, б) в качестве фрагмента  $\text{C}_{16}$ . Несмотря на более мягкие условия проведения конденсации *o*-подбензилового спирта (X) с этим веществом и достигаемые при этом большие выходы (до 80%), такой путь уступает варианту А. Это связано в первую очередь со сложностью получения самого углеводорода состава  $\text{C}_{16}$  (XIVa, б). Так, прямая дегидратация третичного карбинола (VIII) с использованием различных дегидратирующих агентов ( $\text{POCl}_3$ ,  $\text{TosOH}$ ,  $\text{Bu}^t\text{OK}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) всегда сопровождается образованием соединений *ретро*-ряда, а трансформация соединения (VIII) через промежуточное ацетильное производное (VIIIa) приводит к практически неразделяемой смеси 9-*транс*- и 9-*цис*-изомеров (XIVa, б) (ср. [11]). Дополнительные осложнения возникают при превращении дегидропроизводного (XV) в соответствующий аналог ретинола (XIII). Несмотря на варьирование условий реакции, нам не удалось осуществить гидрирование соединения (XV) на катализаторе Линдлара. С аналогичными трудностями мы столкнулись и в случае соответствующего альдегида (XVI). Восстановление ацетиленового карбинола (XV) с помощью  $\text{LiAlH}_4$  протекало с меньшей конверсией, чем в случае соединения (XI) (см. рис. 1б). При этом нами наряду с полностью-*транс*- (XIII) с выходом до 10% был выделен 11-*цис*-изомер спирта (XIII),

структура которого следовала из данных  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектров, в частности из значения константы спин-спинового взаимодействия протонов при C11 и C12 ( $J_{\text{H11}, \text{H12}}$  12 Гц).

Таким образом, нами продемонстрирована перспективность использования в синтезе арилсодержащих ретиноидов реакции этинилирования ароматических иодидов, катализируемой комплексами палладия, а также применение в качестве фрагмента  $\text{C}_{16}$  доступного 9-(2-пропинил)- $\beta$ -инола (VIII).

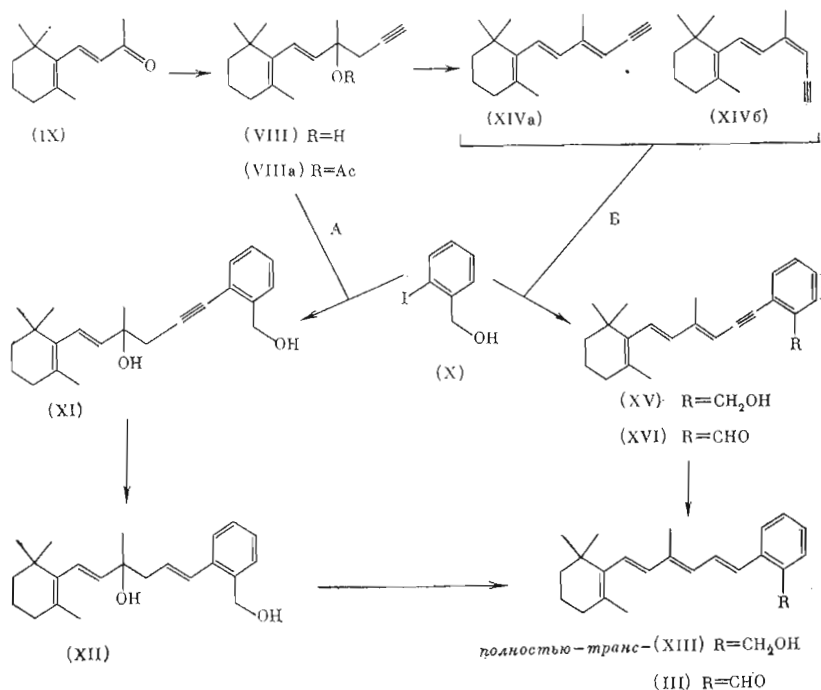
Синтезированные альдегиды (I)–(III) были использованы далее для приготовления соответствующих альдиминов с *n*-бутиламином (табл. 2). Реакцию проводили в метаноле с избытком амина в присутствии молекулярных сит 3Å. Влияние ароматического кольца на сопряженную с ним иминную группировку проявилось в первую очередь в высокой скорости гидролиза  $\text{C}=\text{N}$ -связи. Крайне низкая стабильность альдимина *m*-аналога (II) не позволила достоверно определить величину его  $pK$  спектрофотометрическим методом [12]. Однако, используя 20 мМ цитратные буферные растворы в 20 М метаноле, удалось зафиксировать значения  $pK$  для альдиминов *o*- (III) и *n*-аналогов (I), равные  $4,95 \pm 0,05$  и  $5,45 \pm 0,05$  соответственно. Промежуточные значения поглощения ( $A$ ) на полосе протонированной формы определяли не более чем через 10 с после прибавления аликвоты метанольного раствора альдимина в кювету с буферным раствором. Превышение этого времени приводит к кажущемуся занижению  $pK$ . Для контроля нами использован также индикаторный метод: измеренное значение  $pK$  индикатора метилового красного в аналогичных условиях составляло  $5,60 \pm 0,05$ , тогда как значение  $pK$  этого вещества в воде равно 5,0 [13]. Таким образом, сдвиг шкалы  $pH$  при использовании 20 М метанола составляет 0,6.

С учетом этого  $pK$  альдимина альдегида (I) в воде соответствует значению 4,35, а альдимина альдегида (III) – 4,55. Измеренное значение  $pK$  полностью-*транс*-*N*-ретинилиденбутиламина в буфере на 20 М метаноле составляет  $6,56 \pm 0,05$  или  $\sim 6,0$  в воде. Таким образом, для альдиминов, у которых сопряженные  $\text{C}=\text{N}$ -связи с полиеновой цепью осуществляется через ароматическое кольцо, наблюдается уменьшение значений константы диссоциации примерно в 30 раз по сравнению с соответствующей константой для альдимина ретиналя, что сопровождается снижением гидролитической устойчивости.

Далее полностью-*транс*-изомеры альдегидов (I)–(III) были тестированы в реакции с препаратами бактериоопсина, полученными фотоиндуцированным гидроксиламинолизом бактериородопсина в составе пурпурных мембран. Эта обработка после удаления избытка реагента приводит к так называемым апомембранам, содержащим бактериоопсин и оксиды ретиналя [14]. При инкубации апомембран с 13-*цис*- и полностью-*транс*-ретиналем обычно практически мгновенно образуется нековалентный комплекс, который далее постепенно превращается в исходный бактериородопсин. Проведенные исследования показали, что взаимодействие арилсодержащих альдегидов (I)–(III) с бактериоопсином протекает медленно (рис. 2) и завершается за 24 ч, что обнаруживается по изменению положения, формы и амплитуды полосы поглощения. Любопытно, что в случае *o*-замещенного аналога (III) отсутствует bathochromный сдвиг, обычно характерный для продуктов взаимодействия бактериоопсина с ретиналем или его аналогами.

Среди аналогов ретиналя (I)–(III) только *n*-производное (I) проявляет заметное ингибирующее действие на регенерацию бактериородопсина в апомембранах.

Вопрос о природе образующихся пигментов (нековалентный комплекс или альдимин) был решен на основании следующих данных. Известно, что ионы  $\text{Ag}^+$  в концентрациях 0,5–1 мМ мгновенно разрушают комплексы аналогов ретиналя (например, кетона  $\text{C}_{18}$  или ретинала [15]) с бактериоопсином в присутствии неионного детергента Тритон X-100. С другой стороны, кетон  $\text{C}_{18}$ , для которого характерно образование с бактериоопсином прочного комплекса ( $\lambda_{\text{макс}}$  414 нм), обычно вытесняет в тем-



указанного превращения с помощью  $\text{HBr}$  повышает содержание 9-транс-изомера в смеси до 75% (рис. 1).

Выделенный после хроматографического разделения гомогенный 9-транс-изомер спирта (XIII) переводили в целевой альдегид (III) действием  $\text{MnO}_2$ . Следует отметить, что целесообразность разделения геометрических изомеров синтезируемых веществ на стадии спиртов (XIII) обусловлена незначительной разницей в хроматографической подвижности соответствующих 9-транс- и 9-цис-изомеров альдегидов (III). Удовлетворительного разделения последних не удалось добиться даже с помощью высокоэффективной ТСХ. Поэтому вывод об отсутствии структурной и стереоизомеризации на стадии превращения спирта (XIII) в соответствующий альдегид (III) был сделан на основании данных  $^1\text{H-NMR}$ -спектроскопии.

Нами исследован также альтернативный вариант (B) получения альдегида (III) (схема 2), включающий использование 3-( $\beta$ -нонилиден)пропина (XIVa, б) в качестве фрагмента  $\text{C}_{16}$ . Несмотря на более мягкие условия проведения конденсации *o*-нодбензилового спирта (X) с этим веществом и достигаемые при этом большие выходы (до 80%), такой путь уступает варианту A. Это связано в первую очередь со сложностью получения самого углеводорода состава  $\text{C}_{16}$  (XIVa, б). Так, прямая дегидратация третичного карбинола (VIII) с использованием различных дегидратирующих агентов ( $\text{POCl}_3$ ,  $\text{TosOH}$ ,  $\text{Bu}^t\text{OK}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) всегда сопровождается образованием соединений *retro*-ряда, а трансформация соединения (VIII) через промежуточное ацетильное производное (VIIIa) приводит к практически неразделяемой смеси 9-транс- и 9-цис-изомеров (XIVa, б) (ср. [11]). Дополнительные осложнения возникают при превращении дегидропроизводного (XV) в соответствующий аналог ретинола (XIII). Несмотря на варьирование условий реакции, нам не удалось осуществить гидрирование соединения (XV) на катализаторе Линдлара. С аналогичными трудностями мы столкнулись и в случае соответствующего альдегида (XVI). Восстановление ацетиленового карбинола (XV) с помощью  $\text{LiAlH}_4$  протекало с меньшей конверсией, чем в случае соединения (XI) (см. рис. 1б). При этом нами наряду с полностью-транс-(XIII) с выходом до 10% был выделен 14-цис-изомер спирта (XIII),

структура которого следовала из данных  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектров, в частности из значения константы спин-спинового взаимодействия протонов при C11 и C12 ( $J_{\text{H11}, \text{H12}} 12\text{Гц}$ ).

Таким образом, нами продемонстрирована перспективность использования в синтезе арилсодержащих ретиноидов реакции этилирования ароматических иодидов, катализируемой комплексами палладия, а также применение в качестве фрагмента  $\text{C}_{16}$  доступного 9-(2-пропилил)- $\beta$ -инола (VIII).

Синтезированные альдегиды (I)–(III) были использованы далее для приготовления соответствующих альдиминов с *n*-бутиламином (табл. 2). Реакцию проводили в метаноле с избытком амина в присутствии молекулярных сит ЗА. Влияние ароматического кольца на сопряженную с ним иминную группировку проявилось в первую очередь в высокой скорости гидролиза  $\text{C}=\text{N}$ -связи. Крайне низкая стабильность альдимина *m*-аналога (II) не позволила достоверно определить величину его  $pK$  спектрофотометрическим методом [12]. Однако, используя 20 мМ цитратные буферные растворы в 20 М метаноле, удалось зафиксировать значения  $pK$  для альдиминов *o*- (III) и *n*-аналогов (I), равные  $4,95 \pm 0,05$  и  $5,15 \pm 0,05$  соответственно. Промежуточные значения поглощения ( $A$ ) на полосе протонированной формы определяли не более чем через 10 с после прибавления аликвоты метанольного раствора альдимина в кювету с буферным раствором. Превышение этого времени приводит к кажущемуся занижению  $pK$ . Для контроля нами использован также индикаторный метод: измеренное значение  $pK$  индикатора метилового красного в аналогичных условиях составляло  $5,60 \pm 0,05$ , тогда как значение  $pK$  этого вещества в воде равно 5,0 [13]. Таким образом, сдвиг шкалы  $pH$  при использовании 20 М метанола составляет 0,6.

С учетом этого  $pK$  альдимина альдегида (I) в воде соответствует значению 4,35, а альдимина альдегида (III) – 4,55. Измеренное значение  $pK$  полностью-*транс*-*N*-ретинилиденбутиламина в буфере на 20 М метаноле составляет  $6,56 \pm 0,05$  или  $\sim 6,0$  в воде. Таким образом, для альдиминов, у которых сопряжение  $\text{C}=\text{N}$ -связи с полиеновой цепью осуществляется через ароматическое кольцо, наблюдается уменьшение значений константы диссоциации примерно в 30 раз по сравнению с соответствующей константой для альдимина ретиналя, что сопровождается снижением гидролитической устойчивости.

Далее полностью-*транс*-изомеры альдегидов (I)–(III) были тестированы в реакции с препаратами бактериоопсина, полученными фотоиндуцированным гидроксиламинолизом бактериородопсина в составе пурпурных мембран. Эта обработка после удаления избытка реагента приводит к так называемым апомембранам, содержащим бактериоопсин и оксимы ретиналя [14]. При инкубации апомембран с 13-*цис*- и полностью-*транс*-ретиналем обычно практически мгновенно образуется нековалентный комплекс, который далее постепенно превращается в исходный бактериородопсин. Проведенные исследования показали, что взаимодействие арилсодержащих альдегидов (I)–(III) с бактериоопсином протекает медленно (рис. 2) и завершается за 24 ч, что обнаруживается по изменению положения, формы и амплитуды полосы поглощения. Любопытно, что в случае *o*-замещенного аналога (III) отсутствует батохромный сдвиг, обычно характерный для продуктов взаимодействия бактериоопсина с ретиналем или его аналогами.

Среди аналогов ретиналя (I)–(III) только *n*-производное (I) проявляет заметное ингибирующее действие на регенерацию бактериородопсина в апомембранах.

Вопрос о природе образующихся пигментов (нековалентный комплекс или альдимин) был решен на основании следующих данных. Известно, что ионы  $\text{Ag}^+$  в концентрациях 0,5–1 мМ мгновенно разрушают комплексы аналогов ретиналя (например, кетона  $\text{C}_{18}$  или ретинола [15]) с бактериоопсином в присутствии неионного детергента Трипон X-100. С другой стороны, кетон  $\text{C}_{18}$ , для которого характерно образование с бактериоопсином прочного комплекса ( $\lambda_{\text{макс}} 414\text{ нм}$ ), обычно вытесняет в тем-

ноте аналоги ретиналя из нековалентных комплексов, но не из хромопротеинов с альдегидной связью [16]. Используя указанные тесты, мы установили, что добавление детергента в концентрации 0,05% вызывает частичное разрушение комплексов арилполиеналей (I)–(III) с бактериоопсином (ср. [17]), а последующее добавление  $\text{AgNO}_3$  к данным препаратам приводит к мгновенному разрушению остатков комплексов. Предварительно солибилизированные апомембраны не способны образовывать комплексы с изученными альдегидами (I)–(III) при сохранении способности таких препаратов к ресинтезу бактериородонсина из *полностью-транс*-ретиналя. Кроме того, кетон  $\text{C}_{18}$  быстро и целиком вытесняет арилполиенали (I)–(III) из полученных нами пигментов.

Таким образом, в данном случае взаимодействие аналогов (I)–(III), так же как и соединений № 4–8 (табл. 1), приводит к образованию лишь нековалентных комплексов. Весьма вероятно, что обнаруженное нами на модельных альдимидах существенное снижение их основности будет справедливо также для взаимодействия соответствующих альдегидов и с природным бактериоопсином, что может привести к сдвигу равновесия в реакции образования альдимinov [17] в сторону исходных соединений (ароматических альдегидов и бактериоопсина).

### Экспериментальная часть

ИК-спектры сняты на приборе IR-435 (Shimadzu, Япония) в виде пленки или суспензии в вазелиновом масле, спектры  $^1\text{H-NMR}$  – на приборе WM-250 (Bruker, ФРГ) при 20°С в  $\text{CDCl}_3$ ; внутренний стандарт – гексаметилдисилоксан ( $\delta$  0,05 м. д.). Приведены химические сдвиги в миллионных долях и константы спин-спинового взаимодействия в герцах. УФ-спектры измерены на спектрофотометре UV-240 (Shimadzu, Япония) в метаноле в кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм, масс-спектры получены на приборе MAT CN-6 (Varian, США). При описании спектров приняты следующие сокращения: ср. – средняя, сл. – слабая, ш. – широкая, с – синглет, д – дублет, т – триплет, кв – квартет, м – мультиплет.

Хроматографию в тонком слое осуществляли на пластинках Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck, ФРГ) в системах растворителей: гексан – эфир, 98:2 (А), 10:2 (Б), 1:2 (В), обнаружение серной кислотой или 3% спиртовым подкисленным раствором ванилина, а также в УФ-свете. Адсорбционную колоночную хроматографию проводили на  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (IV ст. акт.) или силикагеле 100/250 мкм (СССР). Preparativную ВЭЖХ проводили на колонке (10×250 мм) с фазой LiChrosorb Si 60 (7 мкм; Du Pont, США), а аналитическую – на колонке (4,6×250 мм) с фазой Zorbax SIL (Du Pont, США) или на колонке (4×150 мм) Армсорб с силикагелем (СССР); элюент – 15% эфир в гексане. Стандартная методика обработки реакций заключалась в разложении реакционной массы водой с последующей экстракцией эфиром не менее трех раз. Объединенный эфирный экстракт промывали водой до pH 7, затем насыщенным раствором NaCl, сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , после чего растворитель удаляли на роторном вакуум-испарителе в темноте при температуре не выше 35°С.

*1,1,3-Триметил-2-[3-метил-4-гидрокси-4-(3-оксиметилфенил)бут-2-енил]циклогекс-2-ен (VI)*; Реактив Гриньяра (V) получали из 2,4 г (88 ммоль) активированной подом магниевой стружки и 11,5 г триметилсилильного производного м-бромбензильного спирта в 20 мл абс. эфира при медленном прибавлении (1 капля/с) раствора 3,8 мл (44 ммоль) 1,2-дибромэтана в 10 мл эфира в атмосфере аргона. Затем смесь кипятили 1 ч, охлаждали до 0°С, декантировали с осадка и в токе аргона прибавляли за 30 мин к раствору 9 г (44 ммоль) альдегида  $\beta\text{-C}_{14}$  (IV) в 15 мл абс. эфира. Через 3 ч интенсивного перемешивания при 20°С под аргоном реакционную массу разлагали 50 мл 0,1 н. HCl. Остаток, полученный после стандартной обработки, хроматографировали на колонке (35×150 мм) с силикагелем при элюировании гексаном (150 мл), а затем эфиром (200 мл). Из эфирной фракции удаляли растворитель и остаток кристаллизовали из гексана. Выход 2 г (14%), т. пл. 100–102°С.  $R_f$  0,22 (В), ИК (в. см<sup>-1</sup>): 3300 ш. (ОН), 3010 сл., 1590 сл., 1515 ср., 1450 ср. (аром.), 1015 с. (C–O). Спектр  $^1\text{H-NMR}$ : 7,25 (4H, м, аром.), 5,49 (1H, триплет квартета дублетов, J 6: 1,25; 1,25; 8-H), 5,08 (1H, с, 10-H), 4,61 (2H, с,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2,74 (2H, д, J 6; 7-H), 2,07 (2H, с, ОН), 1,55 (3H, с, 9- $\text{CH}_3$ ), 1,47 (3H, д, J 1,25; 5- $\text{CH}_3$ ), 0,97 (6H, с, 1-( $\text{CH}_3$ )<sub>2</sub>). Масс-спектр ( $m/z$ ): 314 ( $M^+$ ),  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$ .

*1,1,3-Триметил-2-[3-метил-4-(3-гидрокси-метилфенил)бута-1,3-диенил]циклогекс-2-ен (VII)*. Раствор 0,91 г диола (VI) в 150 мл толуола кипятили с насадкой Дина-Старка в присутствии 0,05 г  $\text{ToSOH}$ . Реакционную смесь обрабатывали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  и остаток, полученный после стандартной обработки, разделяли на колонке (20×400 мм) с силикагелем при элюировании системой гексан – эфир, 95:5. Выход 0,79 г (92%), масло,  $R_f$  0,42 (В). ИК-спектр (в. см<sup>-1</sup>): 3300 ш. (ОН), 3010 сл., 1600 сл., 1510 ср., 1450 ср. (аром.), 1015 с. (C–O); УФ,  $\lambda_{\text{макс}}$ , лм (ε): 288 (37 000); спектр  $^1\text{H-NMR}$ : 7,25 (4H, м, аром.), 6,43 (1H, кв, J 1,2=CH–), 6,19 (2H, с,  $\text{CH}=\text{CH}$ ), 4,66 (2H, с,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2,03 (3H, д, J 1,2; 9- $\text{CH}_3$ ), 1,73 (3H, с, 5- $\text{CH}_3$ ), 1,03 (6H, с, 1-( $\text{CH}_3$ )<sub>2</sub>); масс-спектр ( $m/z$ ): 296 ( $M^+$ ),  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}$ .



**1,1,3-Триметил-2-[3-метил-4-(3-формилфенил)бутил-3-диенил]циклогекс-2-ен (II).** Суспензию 0,53 г спирта (VII) и 5 г  $MnO_2$  в 50 мл абс. бензола интенсивно перемешивали 2 ч в темноте при 20° С. Затем реакционную смесь фильтровали через 2-см слой  $Al_2O_3$ , промывали 50 мл хлороформа, из фильтрата удаляли растворитель и остаток разделяли на колонке ( $12 \times 600$  мм) с  $Al_2O_3$  при элюировании системой гексан – эфир, 98 : 2. Выход 0,33 г (63%), масло,  $R_f$  0,45 (Б); УФ,  $\lambda_{max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 265 (12 000), 295 (14 000). Спектр  $^1H$ -ЯМР: 10,02 (1 H, с, СНО), 7,18; 7,54 (4 H, м, аром.), 6,48 (1 H, с, 10-H), 6,24 (2 H, с, 7-11, 8-11), 2,07 (3 H, д, J 1,2; 9-CH<sub>3</sub>), 1,75 (3 H, с, 5-CH<sub>3</sub>), 1,06 (6 H, с, 1-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); масс-спектр ( $m/z$ ): 294 ( $M^+$ ),  $C_{21}H_{26}O$ .

**1,1,3-Триметил-2-[3-метил-3-гидрокси-4-(2-оксиметилфенил)гекс-1-ен-5-инил]циклогекс-2-ен (XI).** К раствору 556 мг (2,37 ммоль) *o*-нодбензилowego спирта (X), 40 мг бис(трифенилфосфин)палладийдидбромида и 45 мг  $SnI_2$  в 25 мл триэтиламина при кипении добавляли за 30 мин раствор 662 мг (2,85 ммоль) ацетиленового спирта (VIII) [11] в 10 мл триэтиламина в токе аргона. Через 1,5 ч реакционную массу охлаждали до 0° С и выливали в 200 мл 5% HCl, охлажденной до 0° С. Остаток после стандартной обработки разделяли на колонке ( $25 \times 200$  мм) с силикагелем при элюировании в линейном градиенте гексан – эфир до 50% последнего (общий обьем 750 мл). Выход 464 мг (57%), масло,  $R_f$  0,3 (В). ИК ( $\nu$ ,  $cm^{-1}$ ): 3300 ш. (ОН), 3010 сл., 2200 сл., 1590 сл., 1515 ср., 1450 ср. (аром.), 1015 с. (С–О). Спектр  $^1H$ -ЯМР: 7,30 (4 H, м, аром.), 6,15 (2 H, д, J 16; 8-H), 5,58 (1 H, д, J 16; 7-H), 4,74 (2 H, с, CH<sub>2</sub>ОН), 3,30 (2 H, с, ОН), 2,72 (2 H, с, 10-H), 1,64 (3 H, с, 8-CH<sub>3</sub>), 1,45 (3 H, с, 5-CH<sub>3</sub>), 0,95 (6 H, д, 1-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); масс-спектр ( $m/z$ ): 338 ( $M^+$ ),  $C_{23}H_{30}O_2$ .

**1,1,3-Триметил-2-[3-метил-3-гидрокси-6-(2-гидроксиметилфенил)гекс-1,5-диен]циклогекс-2-ен (XII).** К раствору 240 мг ацетиленового диола (XI) в 25 мл абс. тетрагидрофурана при кипении прибавляли двумя порциями через 30 мин по 30 мг LiAlH<sub>4</sub> в атмосфере аргона. После кипячения в течение 7 ч реакционную смесь выдерживали 16 ч при 20° С, разлагали 20 мл насыщенного раствора сегнетовой соли. После стандартной обработки продукт выделяли хроматографией на колонке ( $25 \times 200$  мм) с силикагелем, элюируя вещество смесью гексан – эфир, 2 : 3. Выход 135 мг (57%), масло,  $R_f$  0,25 (В). ИК ( $\nu$ ,  $cm^{-1}$ ): 3300 ш. (ОН), 3010 сл., 1510 ср., 1450 с. (аром.), 1015 с. (С–О). Спектр  $^1H$ -ЯМР: 7,30 (4 H, м, аром.), 6,8 (1 H, д, J 16; 12-H), 6,19 (1 H, д, д, J 7; 8; 16; 11-H), 6,05 (1 H, д, секст, J 16; 1,5; 8-H), 5,54 (1 H, д, J 16; 7-H), 4,72 (2 H, с, CH<sub>2</sub>ОН), 2,5 (2 H, м, 10-H), 1,66 (3 H, д, J 1,5; 9-CH<sub>3</sub>), 1,39 (3 H, с, 5-CH<sub>3</sub>), 0,98 (6 H, с, 1-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); масс-спектр ( $m/z$ ): 340 ( $M^+$ ),  $C_{23}H_{32}O_2$ .

**1,1,3-Триметил-2-[3-метил-6-(2-оксиметилфенил)гекс-1,3,5-триенил]циклогекс-2-ен (XIII).** а) Раствор 200 мг диола (XII) в 5 мл гексана нагревали до кипения в атмосфере аргона и прибавляли 20 мкл 48% HBr, через 15 мин реакционную массу охлаждали до 20° С, последовательно промывали насыщенным раствором  $KHCO_3$ , насыщенным раствором NaCl, высушивали  $Na_2SO_4$ , растворитель удаляли, остаток растворяли в смеси гексан – эфир, 2 : 1, и фильтровали через 2-см слой силикагеля. После удаления растворителя остаток разделяли препаративной ВЭЖХ в системе 30% эфира в гексане. Выход 52 мг (27%). ИК ( $\nu$ ,  $cm^{-1}$ ): 3300 ш. (ОН), 3010 сл., 1600 сл., 1510 ср., 1450 с. (аром.), 1015 с. (С–О). Спектр  $^1H$ -ЯМР: 7,45 (4 H, м, аром.), 7,15 (1 H, д, д, J 11,5; 15,5; 11-H), 6,90 (1 H, д, J 15,5; 12-H), 6,3 (1 H, д, J 11,5; 10-H), 6,25 (1 H, д, J 15,5; 8-H), 6,15 (1 H, д, J 15,5; 7-H), 4,80 (2 H, с, CH<sub>2</sub>ОН), 2,02 (3 H, д, J 1,5; 9-CH<sub>3</sub>), 1,70 (3 H, с, 5-CH<sub>3</sub>), 1,04 (6 H, с, 1-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); масс-спектр ( $m/z$ ): 322 ( $M^+$ ),  $C_{23}H_{30}O$ .

б) К раствору 100 мг ацетиленового спирта (XV) в 30 мл абс. тетрагидрофурана при кипячении в токе аргона за 30 мин прибавляли 0,2 г LiAlH<sub>4</sub> в 20 мл тетрагидрофурана. После кипячения в течение 10 ч реакционную массу разлагали 20 мл насыщенного раствора сегнетовой соли. Остаток, полученный после стандартной обработки, растворяли в смеси гексан – эфир (2 : 1) и фильтровали через 2-см слой силикагеля. После удаления растворителя остаток разделяли препаративной ВЭЖХ в системе 30% эфира в гексане. Выход 12 мг (12%). Данные ВЭЖХ,  $^1H$ -ЯМР- и УФ-спектров вещества, полученных по методам а и б, идентичны.

**1,1,3-Триметил-2-[3-метил-6-(2-формилфенил)гекс-1,3,5-триенил]циклогекс-2-ен (13-деметил-13,14-(бутил-1,3-диено)ретиналь (III).** Раствор 50 мг спирта (XIII) в 20 мл абс. бензола перемешивали с 1 г  $MnO_2$  в темноте при 20° С. После исчезновения исходного соединения (контроль ТСХ) смесь фильтровали через слой окиси алюминия, промывали 50 мл эфира, из объединенного фильтрата удаляли растворитель, альдегид (III) выделяли хроматографией на колонке ( $5 \times 100$  мм) с силикагелем при элюции 10% эфиром в гексане. Выход 40 мг (80%),  $R_f$  0,56 (Б). УФ,  $\lambda_{max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 327 (21 000), 369 (20 000). Спектр  $^1H$ -ЯМР: 10,2 (1 H, с, СНО), 7,5 (1 H, д, J 16; 12-H), 7,48 (4 H, м, аром.), 7,12 (1 H, д, J 11; 16; 11-H), 6,28 (1 H, д, J 11; 10-H), 6,23

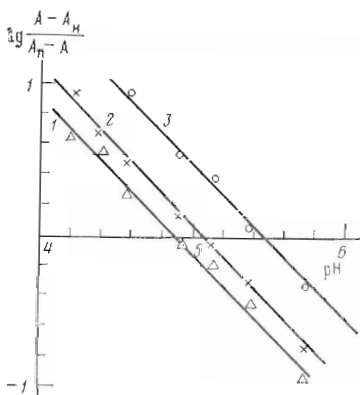


Рис. 3. Определение  $pK$  альдиминов альдегидов (I), (III) и индикатора метилового красного (II) в 20 М метанольных 0,02 М ионных буферных растворах. 1 — альдимин *n*-аналога (I); 2 — альдимин *o*-аналога (III); 3 — метилловый красный

в гексане. Выход 12 мг (12%). Данные ВЭЖХ,  $^1H$ -ЯМР- и УФ-спектров вещества, полученных по методам а и б, идентичны.

**1,1,3-Триметил-2-[3-метил-6-(2-формилфенил)гекс-1,3,5-триенил]циклогекс-2-ен (13-деметил-13,14-(бутил-1,3-диено)ретиналь (III).** Раствор 50 мг спирта (XIII) в 20 мл абс. бензола перемешивали с 1 г  $MnO_2$  в темноте при 20° С. После исчезновения исходного соединения (контроль ТСХ) смесь фильтровали через слой окиси алюминия, промывали 50 мл эфира, из объединенного фильтрата удаляли растворитель, альдегид (III) выделяли хроматографией на колонке ( $5 \times 100$  мм) с силикагелем при элюции 10% эфиром в гексане. Выход 40 мг (80%),  $R_f$  0,56 (Б). УФ,  $\lambda_{max}$ , нм ( $\epsilon$ ): 327 (21 000), 369 (20 000). Спектр  $^1H$ -ЯМР: 10,2 (1 H, с, СНО), 7,5 (1 H, д, J 16; 12-H), 7,48 (4 H, м, аром.), 7,12 (1 H, д, J 11; 16; 11-H), 6,28 (1 H, д, J 11; 10-H), 6,23

Спектральные характеристики аналогов ретиналя, их производных и комплексов с бактериопсином ( $\lambda_{\text{макс}}$ , нм)

Соединение	Альдегиды *	Альдимины с <i>n</i> -бутиламином *		Ацетали *	Комплексы с бактериопсином
		непротонированная форма	протонированная форма		
I	336	324	390	295	425
II	265	—	—	287	325
	295				343
III	327	338	420	335	360
	369				343

\* Спектры поглощения получены в метаноле.

(1 Н, д,  $J$  16; 8-Н), 6,07 (1 Н, д,  $J$  16; 7-Н), 1,99 (3 Н, с, 9-CH<sub>3</sub>), 1,69 (3 Н, с, 5-CH<sub>3</sub>), 1,00 (6 Н, с, 1-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); масс-спектр ( $m/z$ ): 320 ( $M^+$ ), C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O.

1,1,3-Триметил-2-[3-метил-6-(2-оксиметилфенил)гекс-1,3 - диен - 5 - инил]циклогекс-2-ен (XV). К смеси 1,06 г (4,5 ммоль) *o*-подбензильового спирта (X), 0,1 г бис(трифенилфосфин)палладийдидбромида и 0,01 г Cu<sub>2</sub>I<sub>2</sub> в 30 мл триэтиламина при перемешивании в атмосфере аргона прибавляли за 4 ч раствор 0,97 г (4,5 ммоль) ацетиленового углеводорода (XIVa, б) в 10 мл триэтиламина, перемешивали 3 ч при 20° С, фильтровали и подкисляли до pH 3 добавлением 5% HCl. Остаток после стандартной обработки разделяли на колонке (30×500 мм) с силикагелем при элюции системой гексан - эфир, 10 : 1. Выход 1,16 г (80%),  $R_f$  0,59 (A). ИК ( $\nu$ , см<sup>-1</sup>): 3300 ш. (ОН), 3010 сл., 2200 сл. (C≡C), 1590 сл., 1515 ср., 1450 ср. (аром.), 1015 с. (C-O). Спектр <sup>1</sup>H-ЯМР: 7,35 (4 Н, м, аром.), 6,94 (1 Н, д,  $J$  16; 8-Н), 6,42 (1 Н, д,  $J$  16; 7-Н), 5,63 (1 Н, с, 10-Н), 4,83 (2 Н, с, CH<sub>2</sub>ОН), 2,75 (1 Н, с, ОН), 2,04 (3 Н, д,  $J$  1,2; 9-CH<sub>3</sub>), 1,84 (3 Н, с, 5-CH<sub>3</sub>), 1,11 (6 Н, с, 1-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); масс-спектр ( $m/z$ ): 320 ( $M^+$ ), C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O.

Альдимины аналогов ретиналя (I)–(III) с *n*-бутиламином. К раствору 3 мг альдегида в 0,1 мл сухого метанола добавляли 0,1 мл *n*-бутиламина и 10 мг молекулярных сит 3 А. Реакционную смесь выдерживали 24 ч при 0° С в темноте в атмосфере аргона. Сита отфильтровывали, промывали 5 мл сухого эфира, растворитель и избыток *n*-бутиламина удаляли при 0° С и 30 Па, остаток растворяли в 0,2 мл метанола и хранили при -10° С (спектральные характеристики альдиминов приведены в табл. 2).

Определение рК альдиминов. В кювету с 1,6 мл метанола и 0,4 мл 0,1 М цитратного буфера [18], помещенную в кюветное отделение спектрофотометра, с помощью микрошприца вносили 20 мкл метанольного раствора альдимина, интенсивно перемешивали 10 с, после чего регистрировали оптическую плотность ( $A$ ) на аналитической длине волны, соответствующей протонированной форме альдимина (390 нм для *n*-аналога, 420 нм для *o*-аналога). Поглощение ( $A_H$ ) полностью протонированного альдимина определяли в растворе 0,4 мл 0,1 М HCl в 1,6 мл метанола, при использовании 0,1 М NaOH вместо раствора HCl получали поглощение ( $A_N$ ) непротонированного альдимина. Значения рК определяли графическим решением уравнения

$$pH = pK - \lg \frac{A - A_H}{A_H - A}.$$

Значению рК соответствует отрезок, отсекаемый полученной прямой от оси абсцисс (см. рис. 3). Значение рК метилового красного определяли аналогичным методом, проводя измерения при 520 нм.

## ЛИТЕРАТУРА

- Huang K. S., Liao M. J., Gupta G. M., Royal N., Biemann K., Khorana H. G. // J. Biol. Chem. 1982. V. 257. № 15. P. 8596–8599.
- Fang J.-M., Carriker J., Balogh-Nair V., Nakanishi K. // J. Amer. Chem. Soc. 1983. V. 105. № 15. P. 5162–5164.
- Мицнер В. И., Ходонов А. А., Звонкова Е. Н., Евстигнеева Р. П. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 1. С. 5–56.
- Kölling V. E., Gartner W., Oesterheld D., Ernst L. // Angew. Chem. 1984. B. 96. № 1. S. 76–78.
- Muradin-Szweykowska M., Broek A. D., Lugtenburg J., van der Bend R. L., van Dijk P. W. M. // Rec. trav. chim. 1983. V. 102. № 1. P. 42–46.
- Broek A. D., Muradin-Szweykowska M., Courtin J. M. L., Lugtenburg J. // Rec. trav. chim. 1983. V. 102. № 1. P. 46–51.
- Sheves M., Friedman N., Albeck A., Ottolenghi M. // Biochemistry. 1985. V. 24. № 5. P. 1260–1265.

8. *Muradin-Szweykowska M., Peters A. J. M., Lugtenburg J.* // *Rec. trav. chim.* 1984. V. 103. № 4. P. 105–109.
9. *Еремин С. В., Мицнер Б. И., Ходонов А. А., Евстигнеева Р. П.* // *Биоорг. химия.* 1984. Т. 10. № 2. С. 105–109.
10. *Меркушев Е. Б., Шварцберг М. С.* Иодистые органические соединения и синтезы на их основе. Томск, 1978.
11. *Broek A. D., Lugtenburg J.* // *Rec. trav. chim.* 1980. V. 99. № 11. P. 363–366.
12. *Карнаухова Е. Н., Мицнер Б. И., Звонкова Е. Н., Евстигнеева Р. П.* // *Биоорг. химия.* 1985. Т. 11. № 1. С. 98–107.
13. *Бишоп Э.* Индикаторы. М.: Мир, 1976. Т. 1. С. 253.
14. *King G. I., Mowery P. C., Stoerkenius W., Crespi H. L., Shoeborn B. P.* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1980. V. 77. № 8. P. 4726–4730.
15. *Родионов А. В., Шкроб А. М.* // *Биоорг. химия.* 1979. Т. 5. № 3. С. 376–394.
16. *Шкроб А. М., Родионов А. В., Овчинников Ю. А.* // *Биоорг. химия.* 1981. Т. 7. № 8. С. 1169–1194.
17. *Шкроб А. М., Родионов А. В., Овчинников Ю. А.* // *Биоорг. химия.* 1978. Т. 4. № 3. С. 354–358.
18. *Лурье Ю. Ю.* Справочник по аналитической химии. М.: Химия, 1971. С. 232.

Поступила в редакцию  
6.XI.1986

### ARYL-CONTAINING *ALL-TRANS*- AND 13-*CIS*-RETINAL ANALOGUES AND THEIR NONCOVALENT COMPLEXES WITH BACTERIOOPSIN

ERYOMIN S. V., MITSNER B. I., ZVONKOVA E. N., EVSTIGNEEVA R. P.

*M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow*

Arylpolyenals (1,1,3-trimethyl-2-[3-methyl-4-(3-or 4-formylphenyl)buta-1*E*,3*E*-dienyl]-cyclohex-2-ene and 1,1,3-trimethyl-2-[3-methyl-6-(2-formylphenyl)hex-1*E*,3*E*,5*E*-trienyl]-cyclohex-2-ene), analogues of *all-trans*- and 13-*cis*-retinals with CHO-group conjugated with polyene chain through the phenyl ring, have been synthesised. These aldehydes are shown to interact with bacterioopsin forming noncovalent complexes rather than chromoproteins.