



УДК 547.572.3.052

АНАЛОГИ ПОЛНОСТЬЮ-Е-РЕТИНАЛЯ С ФИКСИРОВАННОЙ АЛЬДЕГИДНОЙ ГРУППОЙ

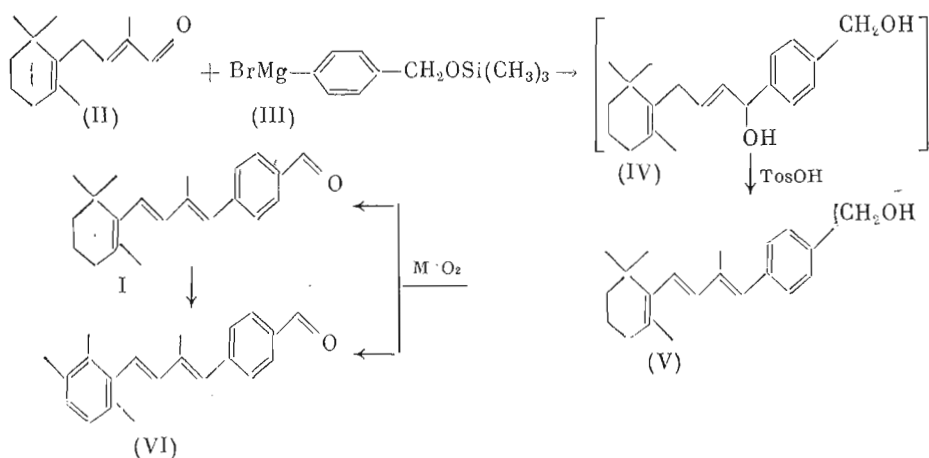
Еремин С. В., Мицнер Б. И., Ходонов А. А.,
Евстигнеева Р. П.

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

Описан синтез 1,1,3-триметил-2-[3-метил-4-(4-формилфенил)-бута-1Е,3Е-диенил]-циклогекс-2-ена. Схема включает в себя конденсацию альдегида β-C₁₄ с реактивом Гриньяра, полученным из триметилсилилового эфира *n*-бромбензилового спирта, дегидратацию образующегося диола и окисление первичной спиртовой группы до альдегидной. Параллельно с последним процессом протекает дигидрирование триметилциклогексенового кольца и образование 2, 3, 6-триметил-2-[3-метил-4-(формилфенил)-бута-1Е, 3Е-диенил] бензола. Установлено что оба альдегида при реакции с бактериоопсином образуют не хромопротеиды, а нековалентные комплексы.

Структурные аналоги ретиналя, отличающиеся от природных хромофорных групп длиной и степенью замещения полиеновой цепи или циклической части, являются эффективным инструментом для изучения хромофорного центра ретинилиденпротеидов — родопсина и бактериородопсина (см., например, [1–3]). Так, установлено, что наличие ароматического кольца вместо триметилциклогексенового не препятствует формированию пигмента как в случае опсина [4], так и в случае бактериоопсина [5]. С другой стороны, известно, что аналоги ретиналя, которые содержат включенное в полиеновую цепь ароматическое кольцо, сопряженное с альдегидной группой, не способны образовывать искусственные пигменты при взаимодействии с опсином быка [4]. Представляло интерес изучить поведение подобных производных, у которых исключено протекание 13Е⇌13Z-изомеризации, характерной для циклических фотопревращений хромофорной группы бактериородопсина и комплексов аналогов ретиналя с бактериоопсином [6].

В связи с этим нами осуществлен синтез 1,1,3-триметил-2-[3-метил-4-(4-формилфенил) бута-1Е,3Е-диен]циклогекс-2-ена (I).



Ключевой стадией синтеза является конденсация альдегида β-C₁₄ (II) с реактивом Гриньяра (III), полученным из триметилсилилового производного *n*-бромбензилового спирта. Из-за трудности образования этого магнийорганического производного (III) мы использовали метод вовлечения с применением 1,2-дибромэтана. Образовавшийся с высоким выходом

диол (IV) без дополнительной очистки подвергали дегидратации в присутствии *n*-толуолсульфокислоты. Полученный аналог ретиниола (V) выделяли хроматографией на окиси алюминия. При окислении спирта (V) нами зафиксировано образование двух хроматографически близких соединений. Эти вещества выделены в индивидуальном состоянии, их чистота подтверждена данными ВЭЖХ, а структура установлена на основании анализа ИК-, УФ-, масс- и ПМР-спектров. Оба соединения имеют похожие УФ-спектры, характерные для сопряженной с альдегидной группой системы из пяти двойных связей [7]; наличие в обоих веществах ОНС-группы четко прослеживается по полосам поглощения при 1695 и 2720 см⁻¹. Молекулярный ион в масс-спектре соединения с большим значением *R_i* соответствует предлагаемой структуре (I) (*m/z* 294), в то время как хроматографически менее подвижный альдегид (VI) имеет значение *m/z* для молекулярного иона на четыре единицы меньше. Это позволило предположить, что процесс окисления сопровождается дегидрированием замещенного циклогексенового кольца с одновременной миграцией метильных групп. При обработке индивидуального образца альдегида (I), содержащего триметилциклогексеновую группировку, активной MnO₂ четко фиксируется образование аротиналя (VI). Скорость и глубина превращения находится в прямой зависимости от количества используемого окислителя, а сам процесс ароматизации не зависит от присутствия в системе кислорода. Склонность к дегидрированию органично связана со структурой альдегида (I). При попытке провести дегидрирование триметилциклогексенового кольца в молекуле *полностью-E*-ретиналя на тех же образцах MnO₂ такое превращение зафиксировано не было, в незначительных количествах образуется лишь *полностью-E-4*-кеторетиналь [8]. В литературе имеются сведения о возможности протекания дегидрирования с ароматизацией триметилциклогексадиеновых и некоторых монозамещенных циклогексеновых производных под действием различных дегидрирующих агентов [9]. Например, при окислении дегидроциклогераниола (шафранола) избытком MnO₂ в ацетоне наряду с ожидаемым шафраналем был выделен в виде динитрофенилгидразона 2,3,6-триметилбензальдегид с выходом 10% [10]. Однако для соединения более сложного строения такое явление зафиксировано нами впервые.

Выбор между указанной структурой (VI) с 2,3,6-замещенным бензольным кольцом и альтернативной — мезитиленовой — был сделан на основании измерения эффекта Оверхаузера при съемке дифференциального спектра ПМР. Интенсивность сигналов двух метильных групп при развязке по ароматическим протонам увеличивается примерно в 2 раза по сравнению с сигналом третьей метильной группы, что соответствует замещенному 2,3,6-триметилбензолу.

Полученные альдегиды (I, VI) были исследованы в реакции рекомбинации с апомембранами, содержащими бактериоопсин (данные получены А. М. Шкробом в Институте биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР). При этом образуются эквимольные нековалентные комплексы, не способные далее превращаться в соответствующие альдимины. Эти комплексы обнаруживаются по появлению в спектрах поглощения мембран двух полос, сдвинутых в сторону больших длин волн относительно полосы свободных альдегидов. Аналогичные спектральные изменения прослеживаются при взаимодействии с бактериоопсином спирта (V). Ни у одного из этих соединений, однако, спектры не изменяются в присутствии пурпурных мембран, содержащих не апобелок, а нативный бактериородопсин. Подобно нековалентным комплексам бактериоопсина с другими аналогами ретиналя указанные комплексы мгновенно распадаются в присутствии ионов серебра [11]. Связанные альдегиды (I) и (IV), как и спирт (V), вытесняются из комплексов с бактериоопсином кетоном C₁₈ или ретиналем [5]. Кроме того, соединения (I), (V) и (VI) конкурентно ингибируют образование бактериородопсина при взаимодействии апомембран с *полностью-E*-ретиналем (ср. [3, 5]). Все эти данные позволяют считать, что указанные соединения в комплексах занимают в белке участок, перекрывающийся с участком связывания ретинилиденового хромофора.

ИК-спектры сняты на приборе Perkin — Elmer 257 (Англия), спектры ПМР — на приборах WH-90 и WM-250 (Bruker, ФРГ) при 20° С в дейтерохлороформе, внутренний стандарт — гексаметилдисилоксан (δ 0,05 м.д.). УФ-спектры измерены на спектрофотометре Hitachi EPS-3T (Япония) в метаноле, масс-спектры — на приборе Varian MAT CN-6 (США) при энергии ионизирующих электронов 70 эВ. ВЭЖХ проводили на колонке (250×4,6 мм) с фазой Zorbax-Sil (DuPont, США), элюент: гексан — эфир, 4 : 1, скорость 1 мл/мин, одновременное детектирование при 330 и 254 нм. Колоночную хроматографию проводили на нейтральной окиси алюминия IV степени активности по Брокману (Reanal, ВНР).

*Триметилсилиловый эфир *n*-бромбензилового спирта.* К раствору 27,0 г *n*-бромбензилового спирта (т. пл. 78–79° С [12]) и 16,5 мл пиридина в 100 мл сухого эфира добавляли при 0° С и перемешивании за 20 мин раствор 20,1 мл триметилхлорсилана в 30 мл сухого эфира, реакционную смесь кипятили 1 ч, охлаждали, осадок отделяли, промывали на фильтре 60 мл эфира, из фильтрата удаляли растворитель, остаток перегоняли. Выход 32,7 г (87,7%), т. кип. 121–122° С/10 мм. Найдено, %: Si 10,69. C₁₀H₁₅BrOSi. Вычислено, %: Si 10,81.

1,1,3-Триметил-2-[3'-метил-4-(4'-оксиметилфенил)-1Е,3Е-бутадиенил]циклогекс-2-ен (IV). Реактив Гриньяра (III) получали из 2,4 г активированной иодом магниевой стружки, 10,9 г триметилсилилового эфира *n*-бромбензилового спирта в 20 мл эфира при медленном добавлении раствора 3,6 мл 1,2-дибромэтана в 30 мл эфира. После окончания прибавления (4 ч) смесь кипятили 1 ч, охлаждали и добавляли за 30 мин раствор 7,8 г альдегида β -C₁₄ (II) в 30 мл эфира, через 2 ч разлагали 0,2 н. HCl. Органический слой отделяли, водный экстрагировали эфиром (2×40 мл), объединенный экстракт промывали водой до pH 7, сушили Na₂SO₄ и растворитель удаляли. Остаток растворяли в 150 мл бензола и кипятили 30 мин в присутствии 0,04 г *n*-толуолсульфокислоты с насадкой Дина — Старка. Реакционную смесь охлаждали, нейтрализовали и остаток, полученный после стандартной обработки, хроматографировали на колонке с 100 г окиси алюминия, применяя градиентное элюирование (от гексана к смеси гексана с 30% эфира). Фракции, содержащие вещество с R_f 0,22 (здесь и далее на силуфоле, гексан — эфир, 2 : 1), объединяли и растворитель удаляли. Выход 6,75 г (60%). ИК-спектр (пленка, ν , см⁻¹): 3300 ш. (ОН), 3010, 1600 сл., 1500 ср., 1450 с. (аром.), 1015 с. (C—O); УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (ϵ): 293 (27 000); ПМР-спектр (δ , м.д.): 1,19 (6H, с, 1,1-CH₃), 1,84 (3H, с, 3-CH₃), 2,14 (3H, д, J 1,2 Гц), 4,73 (2H, с, CH₂O), 6,30 (2H, с, CH=CH), 6,54 (1H, кв, =CH, J 1,2 Гц), 7,28 (4H, с, аром.). Найдено, %: C 84,95; H 9,61. C₂₁H₂₈O. Вычислено, %: C 85,08; H 9,52.

1,1,3-Триметил-2-[3'-метил-4'-(4'-формилфенил)бута-1'Е,3'Е-диенил]циклогекс-2-ен (I) и 2,3,6-триметил-2-[3'-метил-4'-(4'-формилфенил)бута-1'Е,3'Е-диенил]бензол (VI). Раствор 0,50 г спирта (IV) в 50 мл сухого бензола перемешивали с 5 г MnO₂ в темноте при 20° С. После исчезновения исходного соединения (около 2 ч, контроль ТСХ) смесь фильтровали через слой окиси алюминия, промывали 50 мл хлороформа, из фильтрата удаляли растворитель и остаток хроматографировали на колонке (30×2 см). Градиентным элюированием (от гексана к смеси гексана — эфир, 4 : 1) выделяли 0,36 г (72%) альдегида (I) (R_f 0,68; при ВЭЖХ t_R 4,11 мин) с т. пл. 52–54° С (из пентана) и 0,08 г (16%) аротиналя (VI) (R_f 0,59; t_R 4,88 мин).

Для альдегида (I): УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (ϵ): 328 (26 500); ПМР-спектр (δ , м.д.): 1,26 (6H, с, 1,1-CH₃), 1,74 (3H, с, 3-CH₃), 2,10 (3H, с, 3'-CH₃), 6,14 (1H, д, 2'-H, J 16 Гц), 6,29 (1H, д, 1'-H, J 16 Гц), 6,43 (1H, с, 4'-H), 7,46 (2H, д, *m*-аром., J 8,2 Гц), 7,84 (2H, д, *o*-аром., J 8,2 Гц), 9,98 (1H, с, CHO); масс-спектр, m/z : 294 (M⁺). Найдено, %: C 85,75; H 8,79. C₂₁H₂₆O. Вычислено, %: C 85,66; H 8,90.

Для альдегида (VI): УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (ϵ): 326 (27 500); ПМР-спектр (δ , м.д.): 2,20 (3H, д, 3-CH₃, J 1,2 Гц); 2,30; 2,28; 2,26 (9H, т,

3 CH₃-группы); 6,36 (1H, д кв, 2'-H, *J* 16 Гц, *J* 1,2 Гц); 6,55 (1H, с, 4'-H); 6,78 (1H, д, 1'-H, *J* 16 Гц), 6,98 (2H, с, 4H+5H), 7,47 (2H, д, *m*-аром., *J* 8,2 Гц), 7,87 (2H, д, *o*-аром., *J* 8,2 Гц), 9,94 (1H, с, CHO); масс-спектр, *m/z*: 290 (*M*⁺). Найдено, %: С 86,68; Н 7,52. С₂₁Н₂₂О. Вычислено, %: С 86,85; Н 7,64.

Дегидрирование альдегида (I). В указанных в предыдущем эксперименте условиях из 0,33 г альдегида (I) и 5 г MnO₂ в 40 мл бензола получали 0,19 г (58%) аротиналя (VI). Данные УФ- и ПМР-спектров выделенного вещества полностью совпадали с соответствующими данными заводского образца.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Motto M. G., Sheves M., Tsujimoto K., Balogh-Nair V., Nakanishi K.* J. Amer. Chem. Soc., 1980, v. 102, № 27, p. 7947—7949.
2. *Eyring G., Curry B., Broek A., Lugtenburg J., Mathies R.* Biochemistry, 1982, v. 21, № 2, p. 384—393.
3. *Ovchinnikov Yu. A., Shkrob A. M., Rodionov A. V., Mitzner B. I.* FEBS Lett., 1979, v. 97, № 1, p. 15—19.
4. *Matsumoto H., Asato A. E., Denny M., Baretz B., Yao-Pin Yen, Tong D., Liu R. S. H.* Biochemistry, 1980, v. 19, № 20, p. 4589—4594.
5. *Шкроб А. М., Родионов А. В., Овчинников Ю. А.* Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 8, с. 1169—1194.
6. *Stoerkenius W., Losier R. H., Bogomolni R. A.* Biochim. et biophys. acta, 1979, v. 505, № 3, p. 232—239.
7. *Velter W., Englert G., Rigassi N., Schwieter U.* In: Carotenoids / Ed. Isler O. Basel und Stuttgart: Birkhäuser Verlag, 1971, p. 192—201.
8. *Соколова Н. А., Мицнер Б. И., Закус В. И.* Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 7, с. 1053—1058.
9. *Leffingwell J. C., Bluhm H. J.* J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1969, p. 1151—1152.
10. *Bächli B., Karrer P.* Helv. chim. acta, 1955, V. 38, № 6, S. 1863—1869.
11. *Родионов А. В., Шкроб А. М.* Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 3, с. 376—394.
12. *Carother W. H., Adams A. R.* J. Amer. Chem. Soc., 1924, v. 46, p. 1675—1683.

Поступила в редакцию
20.VII.1983

all-E-RETINAL ANALOGUES WITH FIXED ALDEHYDE GROUP

ERYOMIN S. V., MITSNER B. I., KHODONOV A. A., EVSTIGNEEVA R. P.

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

Synthesis of 1,1,3-trimethyl-2-[3-methyl-4-(4-formylphenyl)-buta-1*E*, 3*E*-dienyl]cyclohex-2-ene is described. It involves condensation of β-C₁₄-aldehyde with Grignard compound prepared from the trimethylsilyl ether of 4-bromobenzyl alcohol, dehydration of the intermediate diol and oxidation of the primary hydroxyl into aldehyde group by manganese dioxide. Simultaneously with this process, the dehydrogenation of the trimethylcyclohexene ring takes place and 2,3,6-trimethyl-2-[3-methyl-4-(4-formylphenyl)-buta-1*E*, 3*E*-dienyl]benzene is obtained. Both aldehydes are shown to interact with bacterioopsin forming noncovalent complexes, rather than chromoproteins.