



УДК 547.382.3.057:577.112.854

АНАЛОГИ РЕТИНАЛЯ И ИХ РОЛЬ  
В ИССЛЕДОВАНИИ БАКТЕРИОРОДОПСИНА© 1996 г. А. А. Ходонов<sup>#</sup>, С. В. Еремин, Дж. Л. Локшин, В. И. Швец,  
О. В. Демина\*, Л. В. Хитрина\*, А. Д. Каулен\*Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,  
117571, Москва, просп. Вернадского, 86;\* Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва  
Поступила в редакцию 19.03.96 г.

Рассмотрены разработанные авторами методы синтеза аналогов ретиналя, сведения о взаимодействии этих аналогов с бактериородопсином, а также свойства полученных пигментов. Эти данные позволили исследовать избирательность бактериородопсина к хромофорам.

Ключевые слова: ретиноиды, ретиналь, бактериородопсин, аналоги, фотоцикл.

Развитие научного наследия проф. Н.А. Преображенского в области синтеза витамина А и его производных привело к формированию двух широко известных в России и за рубежом научных школ: на кафедре биотехнологии МГАТХТ им. М.В. Ломоносова и в лаборатории полиеновых соединений ВНИВИ НПО "Витамины".

Производные витамина А (ретиноиды) характеризуются широким спектром физиологической и фармакологической активности. Они, например, участвуют в преобразовании света в биологических системах, являясь простетическими группами хромопротеидов. Эти белки ответственны за различные фотобиологические функции: зрение (родопсины, иодопсины, порфириопсины), фототаксис и фоторецепцию (сенсорный родопсин, хламиродопсин, фараонсиродопсин), фотоизомеризацию (ретинохром), а также энергообеспечение клетки – светозависимый транспорт ионов водорода (бактериородопсин) и хлора (галлородопсин) [1–10].

С другой стороны, бурно развиваются исследования лечебного и профилактического действия ретиноевой кислоты и ее производных на некоторые виды опухолей [11–14].

В течение последних 20 лет на кафедре биотехнологии систематически разрабатываются методы получения ретиноидов различного строения, а также изучается влияние элементов их структуры на функционирование ретиноид-белковых ком-

плексов (бактериородопсина и ядерных рецепторов ретиноевой кислоты).

Все известные синтетические методы могут быть условно разделены на две группы: а) стереоселективный синтез определенных изомеров ретиноидов; б) синтез наиболее доступного из изомеров или их смеси с последующей фото- или термоизомеризацией и выделением требуемого изомера из реакционной смеси. Если при синтезе различных производных ретиналя и ретиноевой кислоты основные усилия обычно направлены на создание тетраеновой цепи, имеющей *all-E*-конфигурацию, то для производных ретиналя необходимо располагать методами получения его *Z*-изомеров.

Среди ретинальсодержащих белков наиболее изучен бактериородопсин (БР), функционирующий как светозависимый протонный насос. Его выделяют из экстремально галофильной бактерии *Halobacterium salinarium* (*halobium*) в виде пурпурных мембран (ПМ), которые представляют собой двумерную гексагональную решетку из тримеров БР. Белковая часть БР – бактериоопсин (БО) (*M* 26.7 кДа) состоит из единственной полипептидной цепи [15, 16], а его хромофором является протонированный альдимин ретиналя с  $\epsilon$ -аминогруппой Lys-216. В результате поглощения фотона хромофор изомеризуется по C13=C14-кратной связи и происходят конформационные переходы в белковой части молекулы, а также изменения спектра поглощения пигмента. Все эти превращения носят циклический характер. В начале этого цикла наблюдается депротонирование альдимина и выброс протона с внешней стороны ПМ в окружающую среду. Возврат молекулы в исходное состояние сопровождается репротонированием

Сокращения: БР – бактериородопсин, БО – бактериоопсин, ПМ – пурпурные мембраны, АМ – апомембраны; L, D – формы пигментов, адаптированные к свету или темноте; Me<sub>3</sub>Si – триметилсилильная группа.

<sup>#</sup> Автор для переписки.

альдимины, поглощением  $H^+$  с цитоплазматической стороны мембраны и изомеризацией полиеновой цепи. В результате при каждом обороте фотохимического цикла через мембрану переносится один протон.

Хотя исследованием фотохимического цикла БР занимаются десятки лабораторий во всем мире, молекулярный механизм светозависимого транспорта протонов до сих пор неизвестен.

В последние годы удалось получить высококачественные трехмерные кристаллы некоторых мембранных белков, что позволило установить их третичную структуру, включая локализацию молекул связанной воды, с помощью рентгеноструктурного анализа [17, 18]. Однако в случае БР вырастить подобные трехмерные кристаллы пока никто не смог, поэтому структура его хромофорного центра до настоящего времени не установлена, а существующие модели (см. ниже) во многом гипотетичны.

В настоящей публикации обобщены результаты исследований влияния модификаций ретиналя на спектральные и фотохимические свойства продуктов его взаимодействия с БО, проводимых на кафедре биотехнологии МГАТХТ совместно с лабораторией фотохимии биомембран НИИ ФХБ. Данный прием – один из основных и наиболее перспективных подходов к изучению структуры хромофорного центра БР. Изменения структуры затрагивали: 1) конфигурацию двойных связей; 2) триметилциклогексеновое кольцо, включая его замену на ароматическое; 3) введение заместителей при  $C_{13}$ -атоме; 4) удлинение полиеновой цепи на два и пять атомов углерода; 5) закрепление *E*- или *Z*-конфигурации путем введения в полиеновую цепь циклов различной природы и размеров; 6) введение тройной связи в  $C_{11}=C_{12}$ -положение; 7) введение в различные положения молекулы репортерных групп различной природы (спиновые, флуоресцентные, изотопные, электронно-плотные метки).

Основные методологические подходы и приемы синтеза различных аналогов ретиналя были достаточно подробно освещены в нашем обзоре [5] и ряде последующих монографий [11, 12]. Поэтому мы ограничимся в рамках настоящего сообщения лишь кратким описанием и критическим анализом использованных нами методов и схем получения аналогов ретиналя, разработанных впервые на кафедре биотехнологии, сведениями о спектральных и фотохимических свойствах продуктов взаимодействия этих и некоторых функционально близких полиеналях с бактериоопсином, а также обсуждением допустимых вариантов активного центра БР, следующих из свойств рассмотренных хромопротеидов и некоторых дополнительных литературных данных.

## СИНТЕЗ АНАЛОГОВ РЕТИНАЛЯ

На первых этапах исследований нами была разработана методология стереоселективного синтеза 13*Z*-изомера ретиналя (1а) [19–23] по схеме  $C_{10} + C_{10}$ , включающую в себя олефинирование по Виттигу (2*E*, 6*Z*)-2,6-диметил-8-трифенилсилилоксикта-2,6-диен-4-ин-1-аля (I) [19] илидом, полученным из  $\beta$ -циклогеранилтрифенилфосфонийбромидом (схема 1) [20]. Олефинирование протекало стереоселективно с образованием исключительно 7*E*, 13*Z*-изомера силилированного 11,12-дидегидроретинала (II). Последующее удаление трифенилсилильной защиты действием  $F^-$ -ионов и гидрирование образующегося спирта (III) на катализаторе Линдлара приводило к малоустойчивому 11*Z*, 13*Z*-ретиналу (IV), который без выделения окисляли оксидом марганца IV в соответствующий изомер ретиналя (V). Нами найдены оптимальные условия направленной термоизомеризации последнего в более стабильный 13*Z*-изомер (1а) с выходом 45% на исходный синтон  $C_{10}$ . Несколько изменив этот подход, мы осуществили синтез большой серии 13*Z*- и *all-E*-изомеров ароматических аналогов ретиналя (32)–(41) и их 11,12-дидегидропроизводных (42)–(50) [21, 23] (схема 2). Замена триметилциклогексенового кольца на бензольное позволила, варьируя природу заместителей, регулировать распределение электронной плотности в полиеновой цепи, направленно изменяя максимум поглощения аналога БР. Основные отличия схемы синтеза ароматических аналогов обусловлены возможностью образования при олефинировании смеси 7*Z*- и 7*E*-изомеров и потерей региоселективности при их гидрировании на катализаторе Линдлара.

По этим причинам мы изменили порядок превращений: вначале соответствующий 11,12-дидегидроспирт (III) окисляли до альдегида (42)–(50) и затем проводили гидрирование на катализаторе Линдлара и направленную термоизомеризацию соединений 11*Z*, 13*Z*-ряда в аналоги 13*Z*-ретиналя (32)–(41). Результаты тестирования полученных полиеналях в реакции с БО, а также фотохимические свойства соответствующих аналогов БР представлены в таблице (см. ниже) [22–25].

Одновременно в нашей лаборатории были разработаны методы модификации триметилциклогексенового кольца в доступном *all-E*-ретинале (1) (схема 3) [26–29].

Эти методы включали аллильное бромирование *all-E*-ретиналя (1) *N*-бромсукцинимидом и последующее замещение атома брома на гидроксигруппу (23), алкокси- (24)–(27), ацилокси- (28), (29), (31) или азидогруппу (30) [26] либо элиминирование  $NBr$  с получением 3,4-дидегидропроизводного (17). Другие виды модификации состояли в аллильном окислении метиленовой группы в кольце под действием “кислой” формы диоксида марганца IV с образованием 4-кеторетиналя (22) [27] или в

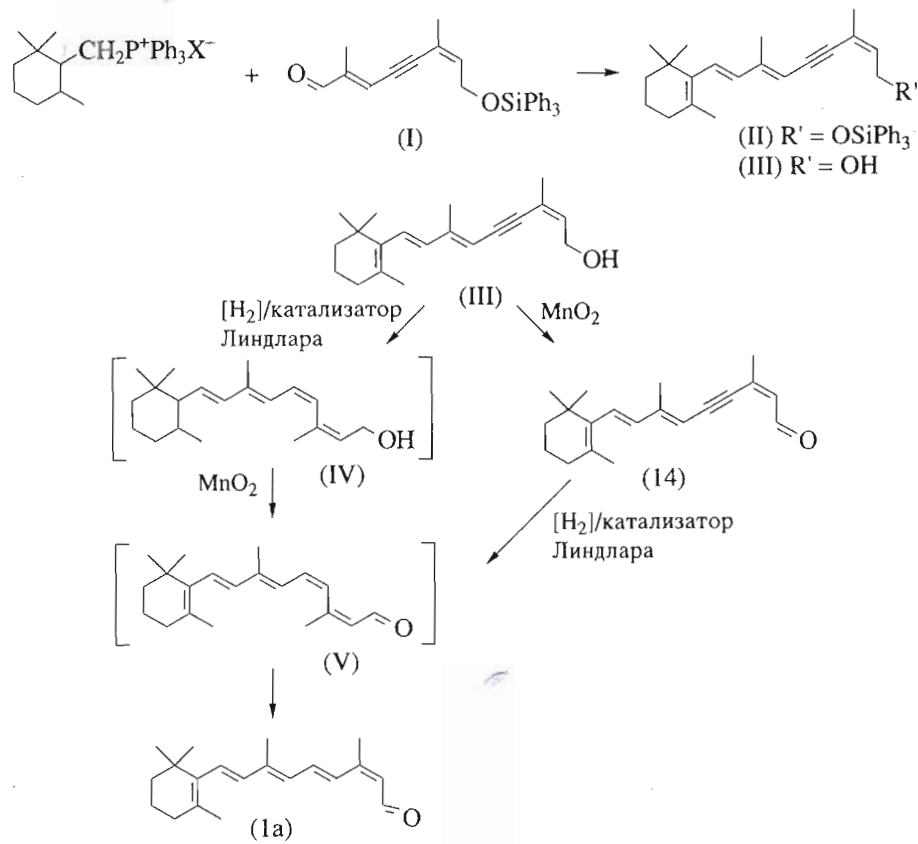


Схема 1.

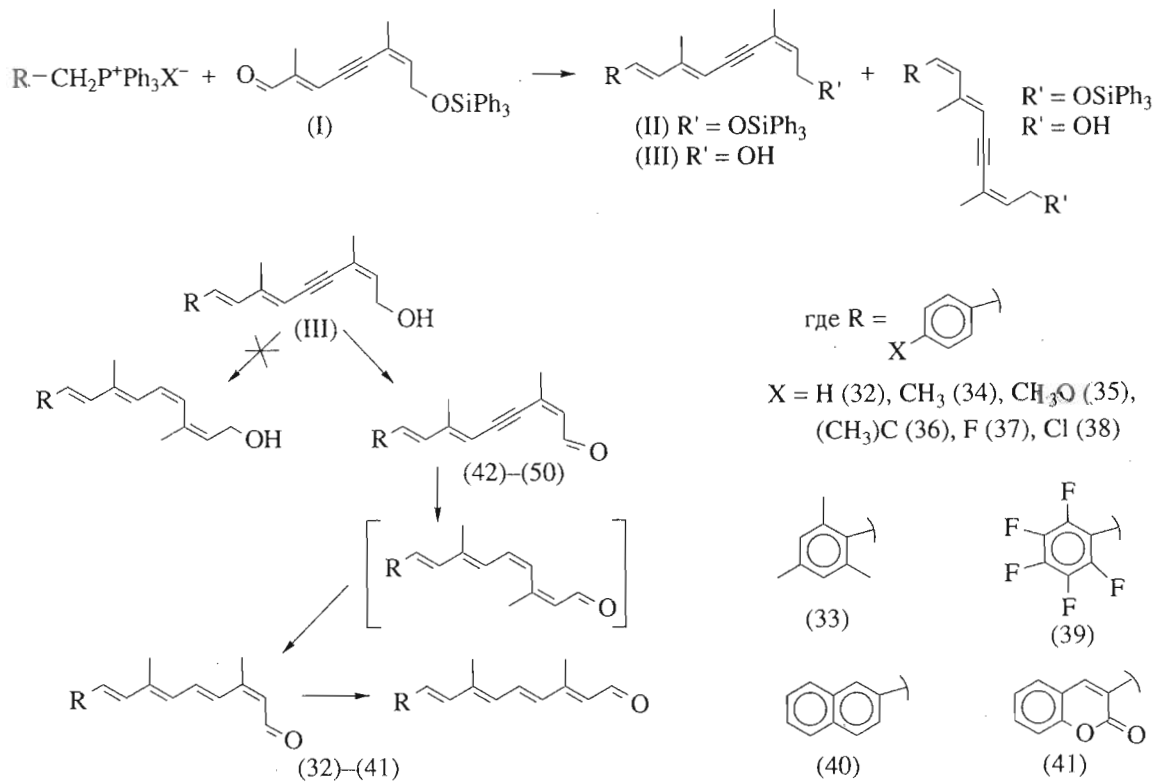


Схема 2.

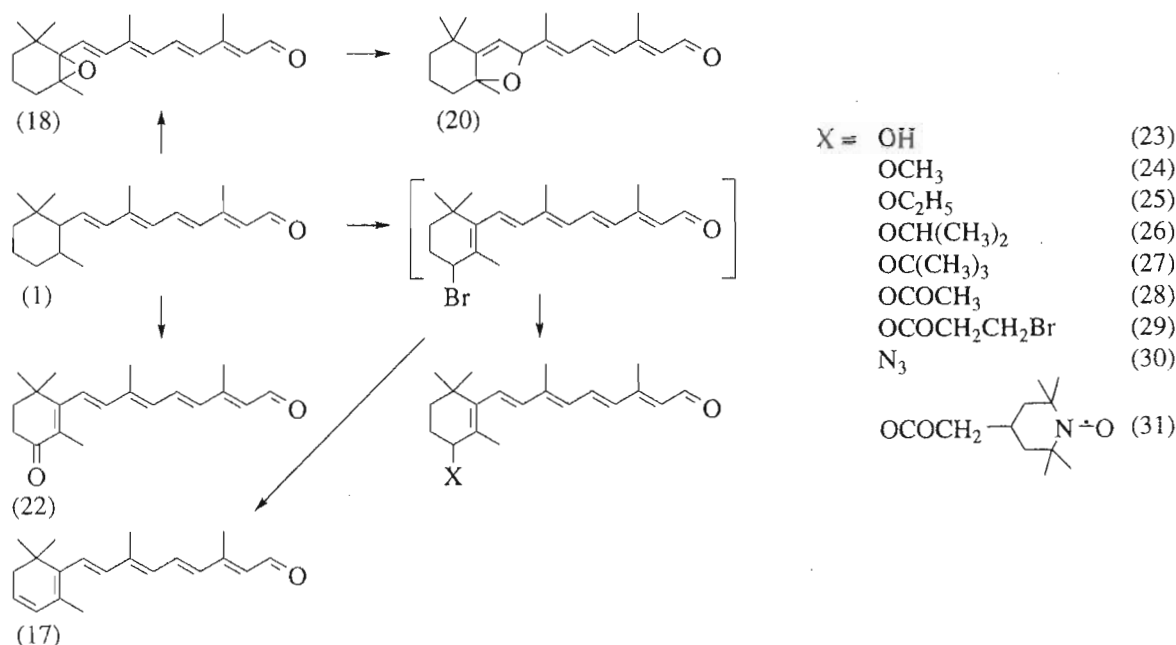


Схема 3.

эпоксидировании  $\text{C5}=\text{C6}$ -двойной связи в ретинале или его 3,4-дидегидропроизводном, приводящем к соединениям (18)–(20) [28, 29]. Оптимизация известной ранее процедуры аллильного бромирования *all-E*-ретиналя (1) (реакцию проводили в сухом тетрагидрофуране при  $0^\circ\text{C}$  в темноте) [26, 27] позволила синтезировать модифицированные в кольце производные, имеющие как *all-E*-, так и 13*Z*-конфигурацию полиеновой цепи. Свойства соответствующих 3,4-дидегидро- (17),  $\text{C4}$ -замещенных (22)–(31) и 5,6-дигидро-5,6-эпоксипроизводных ретиналя (18), а также полученных из них соответствующих аналогов БР представлены в таблице [29–31].

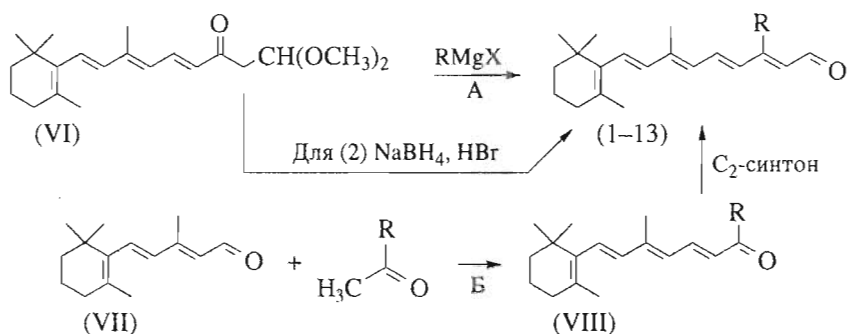
Так как первичным актом в фотоцикле БР является изомеризация  $\text{C13}=\text{C14}$ -двойной связи в хромофоре, введение различных заместителей при  $\text{C13}$ -атоме должно заметно сказываться на свойствах аналогов БР. Ранее Остерхельтом было показано [32], что удаление метильной группы у  $\text{C13}$ -атома снижает транспортную способность соответствующего хромопротеида (2) в 30 раз. С другой стороны, по Наканиши [33] фиксация конфигурации  $\text{C13}=\text{C14}$ -связи приводит к пигментам, у которых вообще отсутствует фотоцикл и протонный транспорт. Так была строго доказана взаимосвязь между изомеризацией  $\text{C13}=\text{C14}$ -связи и светозависимым протонным транспортом. Чтобы более детально изучить влияние характера и размеров заместителей у  $\text{C13}$ -атома, мы разработали ряд методов синтеза соответствующих аналогов ретиналя (соединения (2)–(13), схема 4) [34–37]. Для получения  $\text{C13}$ -замещенных ретиналей (3)–(13) использовались два взаимодополняющих подхода:

введение необходимого заместителя после формирования углеродного скелета ретиналя или же в ходе наращивания полиеновой цепи.

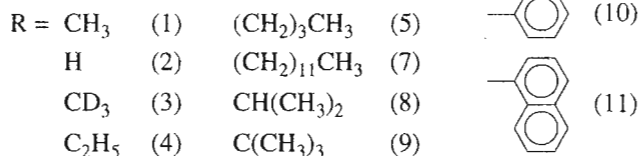
Первый подход (А) заключался в конденсации кетоацетала- $\text{C}_{19}$  (VI) с алкилмагнигалогенидами и последующей дегидратации с одновременным удалением ацетальной защиты. Альтернативный путь (Б) оказался наиболее удобным для введения стерически затрудненных заместителей. Он включает получение аналогов кетона- $\text{C}_{18}$  (VIII) конденсацией соответствующих метилалкилкетонов и альдегида- $\text{C}_{15}$  (VII) и последующее наращивание полиеновой цепи на  $\text{C}_2$ -фрагмент олефинированием по Хорнеру или Петерсону.

Как уже отмечалось, конфигурация двойных связей в хромофоре существенно влияет на фотохимические свойства хромопротеидов. Поэтому несомненный интерес представляют аналоги ретиналя, содержащие природой и размерами, которые исключали бы  $Z \rightarrow E$ -изомеризацию определенной двойной связи. Мы разработали методы синтеза арилполиеналей (55)–(57), (64) (схема 5) [23, 38, 39], у которых сопряжение между альдегидной группой и полиеновой цепью осуществляется через *орто*-, *пара*- или *мета*-замещенное бензольное кольцо.

Конденсацией альдегида  $\beta\text{-C}_{14}$  (IX) с реактивами Гриньяра, полученными из триметилсилильных производных *n*- и *m*-бромбензиловых спиртов, были приготовлены диолы, которые количественно дегидратировали (толуол,  $110^\circ\text{C}$ , 20 мин, *n*-TsOH). Полученные аналоги ретинола превращали в



Синтезированные по варианту А:



Синтезированные по варианту Б:

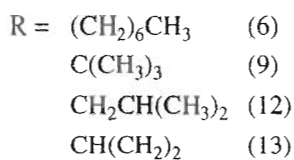


Схема 4.

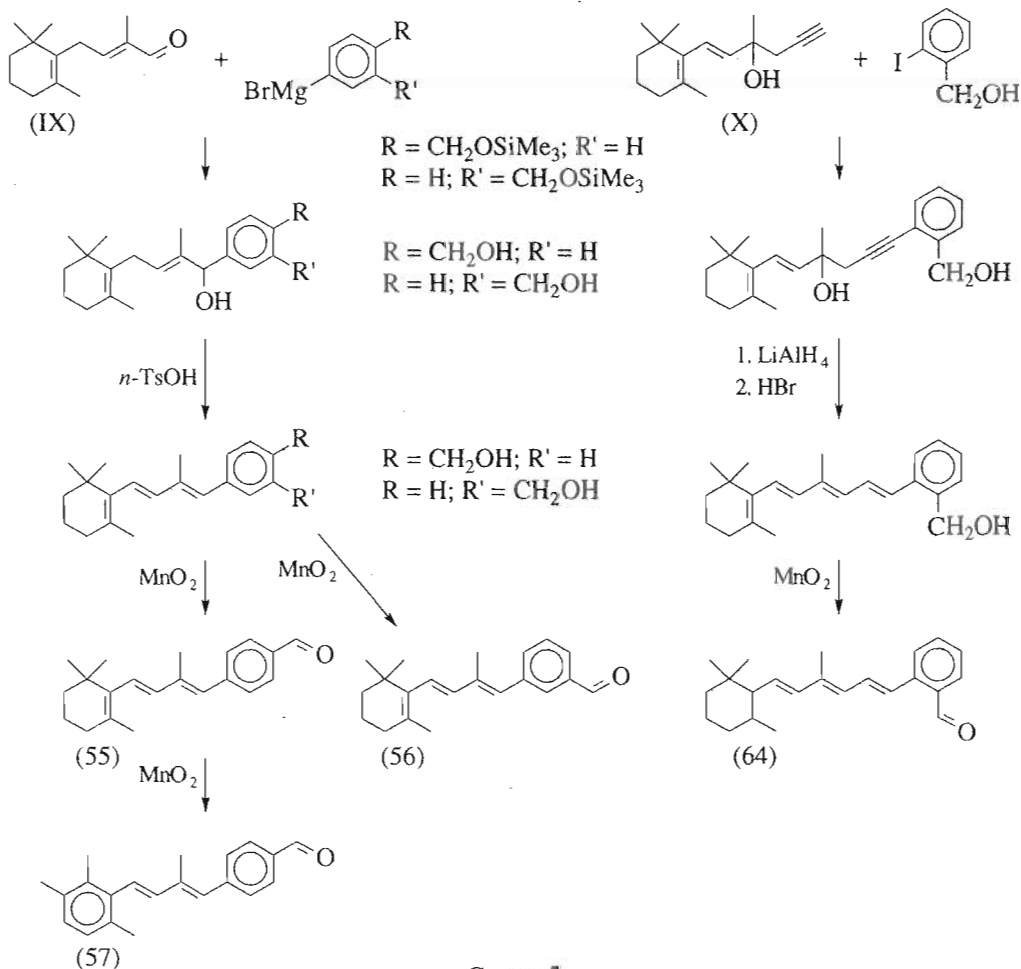


Схема 5.

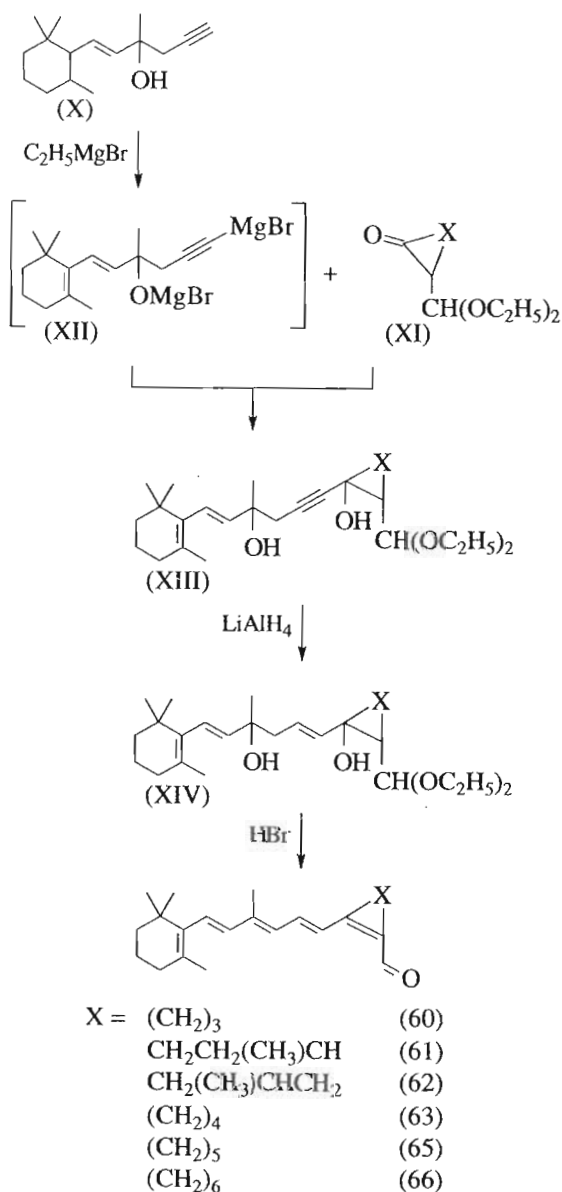


Схема 6.

альдегиды (55), (56) окислением диоксидом марганца IV. При этом было обнаружено, что такая обработка в случае *n*-аналога (55) сопровождается миграцией метильной группы и одновременно дегидрированием циклогексенового кольца с образованием соединения (57).

Ключевая стадия синтеза арилполиеналя – аналога (64) 13*Z*-ретиная – заключалась в конденсации 9-(2-пропинил)-β-инола (X) с *o*-иодбензиловым спиртом в присутствии Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>, Cu<sub>2</sub>I<sub>2</sub> в триэтиламин. Превращение полученного при этом ацетиленового диола в альдегид проводили в три стадии: восстановлением C≡C-связи (LiAlH<sub>4</sub>), дегидратацией (HBr) и окислением первичной гидроксильной функции до альдегидной (MnO<sub>2</sub>) [39].

Для получения аналогов 13*Z*-ретиная (60)–(63), (65), (66) с фиксацией *Z*-конфигурации полиеновой цепи введением моноенового цикла различной длины была предложена схема 6 [40, 41]. Здесь ключевой стадией, приводящей к диолинам (XIII), является взаимодействие циклических β-кетоацеталей (XI) с реактивом Йоичица (XII), приготовленным из ацетиленового карбинола (X) и этилмагнийбромида в эфире. Диолы (XIV), полученные восстановлением диолинов (XIII) LiAlH<sub>4</sub> в тетрагидрофуране при 65–70°C, затем дегидратировали с одновременным удалением ацетальной защиты нагреванием в ацетоне в присутствии каталитических количеств HBr. Для синтеза метилциклопентеновых аналогов (61), (62) 13*Z*-ретиная C<sub>16</sub>-ацетиленовый спирт (X) вводили в конденсацию со смесью β-кетоацеталей, приготовленной из рацемического 3-метил-1-циклопентанона [41, 42].

Для получения неизомеризующихся аналогов *all-E*-ретиная, содержащих C<sub>5</sub>- или C<sub>6</sub>-моноеновые циклы у C<sub>10</sub>–C<sub>12</sub>- (51)–(54) либо у C<sub>12</sub>–C<sub>14</sub>-атомов хромофора (58), (59), Люгтенбургем и Кирилловой [43] был разработан подход, при котором закрепление конфигурации полиеновой цепи осуществляется внутримолекулярной конденсацией ациклических фрагментов (XIX), (XX) или (XXI), (XXII) [44] (схемы 7, 8). Ключевые синтоны динитрилы (XIX), (XX) или (XXI), (XXII) были синтезированы из подходящих карбонильных предшественников олефинированием по Хорнеру анионами фосфонатов (XVII), (XVIII), полученными *in situ* из легкодоступных динитрилов (XV), (XVI).

## ПОЛУЧЕНИЕ АНАЛОГОВ БР

Ранее был разработан ряд способов получения аналогов БР, основанных на добавлении полиеналя: 1) к растущим клеткам ретинаял-дефицитных штаммов *H. salinarium*, 2) к “белым” мембранам или мембранным пузырькам, полученным из ретинаял-дефицитных штаммов, 3) к так называемым апо-мембранам, которые образуются путем гидроксиламинолиза БР в пурпурных мембранах при интенсивном освещении.

Хотя для установления самого факта встраивания полиеналя в БО пригоден любой метод, первые два подхода имеют существенные недостатки. Во-первых, пока не удастся добиться встраивания более 30–35% ретиная в белые мембраны. По нашим данным, около 60–65% БО в белых мембранах не способны образовывать пигмент. Кроме того, для этих мембран характерны нарушения тримерной структуры. В этой связи кажется естественным добавлять аналоги ретиная к растущей культуре “белых” штаммов с последующим выделением аналогов ПМ. Однако культивирование ретинаял-дефицитных штаммов *H. salinarium* требует много времени, в течение которого реально разрушение, изомеризация или

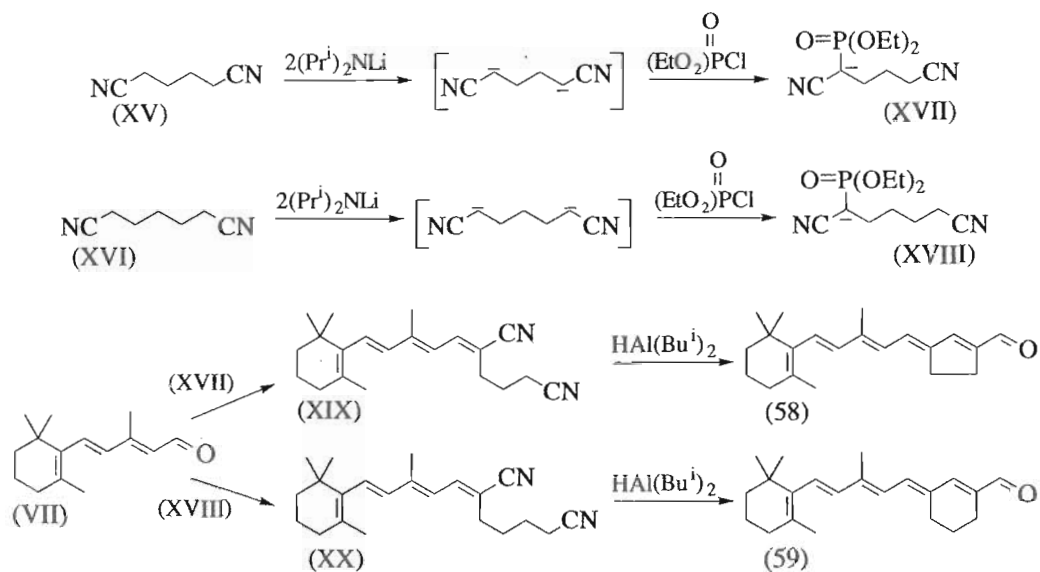


Схема 7.

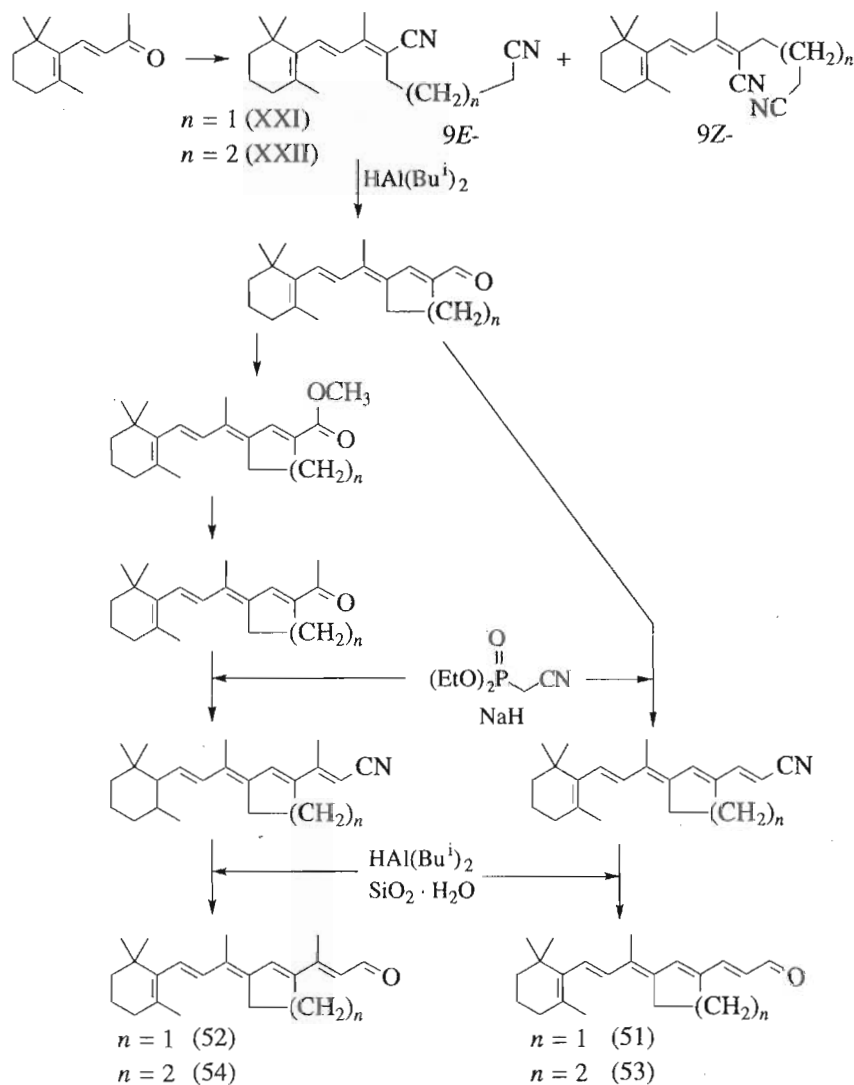


Схема 8.

Свойства модифицированных бактериородопсинов\*

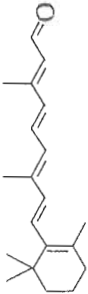
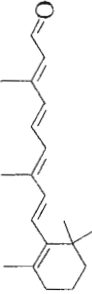
№ соединения	Полиеналь		$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>							Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров <i>all-E</i> / <i>13Z</i>	OS <sup>5*</sup> пикмента, $\text{cm}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
	Структура <sup>2*</sup>	Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	(P)	Пигмент <sup>4*</sup>		Цикл	D $\rightarrow$ L	Деструкция						
1		<i>all-E</i> -	381	360	440									100/0	5120	ПМ		1-5
														50/50	4810			
		<i>all-E</i> -	380	360	437									100	5340	ПМ	$\text{pK}_a$ $13.3 \pm 0.3$	45
		<i>all-E</i> -	380		440	400, 430/460	+	560								R1M1		46
1a		<i>all-E</i> -	375		440			555	568					13Z-<2	5120			47
		13Z-						548						34/66	4710			
		13Z-			440	400, 430/460	+	560	568					0/100	4480	ПМ		2, 48, 49
		11Z-	254, 290sh			400	-								4810			
		9Z-	377												5120			
		7Z-																
		9Z, 13Z-																
16		<i>all-E</i> -	381		465			568							3900			



Таблица. Продолжение

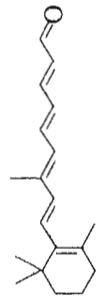
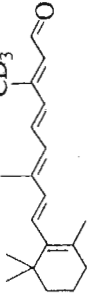
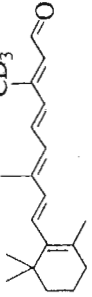
№ соединения	Полиеналь		$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ε, M <sup>-1</sup> см <sup>-1</sup> ] <sup>3*</sup>							Фотореакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров all-E/13Z	OS <sub>5</sub> * пигмента, см <sup>-1</sup>	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.	
	Структура <sup>2*</sup>	Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл	D ↓ L	Деструкция							
							(P)	D	L										
2		all-E-	377	362	439		565			+			~3	15/85	5080	353-Π		34-37	
		all-E-	380 <sup>b</sup>				565			+	-		1-3	15/85		Белые		32, 52	
		all-E-	366 <sup>c</sup>			430							0	21/69, 9Z-8, 11Z-2		R1S9		53, 54	
		all-E-					565			+			~3	15/85		Белые		55	
		all-E-								+			16	16/84		JW5		56	
		all-E-											0	8/92		R1S9		53, 54	
		13Z-	365 <sup>c</sup>			430		560			+			0	15/85		Белые		55
		13Z-						565			+			~3	16/84				
		11Z-				430		560			+			0	-/+		R1S9		53, 54
		11Z-						565			+			~3	16/84		Белые		55
9Z-		9Z-														R1S9		53, 54	
		9Z-														Белые		55	
		7Z-														R1S9		53, 54	
		7Z-														Белые		55	
		7Z-														R1S9		53, 54	
		7Z-						495								Белые		55	
3		all-E-	381	360	440				+			+++		5120	353-Π		35, 36		

Таблица. Продолжение

№ соединения	Полиеналь Структура <sup>2*</sup>		Изомер	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>						Пигмент <sup>4*</sup>			Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров <i>all-E</i> / <i>13Z</i>	$\text{OS}^5*$ пигмента, $\text{cm}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
				CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	(P)	D	L	Цикл	D $\rightarrow$ L	Деструкция								
4			<i>all-E-</i> <i>all-E-</i> <i>all-E-</i>	383 379 <sup>b</sup>	365	446			559	567 556 560 [60000]	+	+	+	~70 70 70	4790 67/33 67/33 70/30	353-П Белые JW5	35-37 52 56				
5			<i>all-E-</i>	382	358	439		540			+			+	4260	353-П	35, 36				
6			<i>all-E-</i> 13Z-	380 376	357 363	439 444		531 527			+				3950 3550	353-П	н. д. <sup>1*</sup>	20°C, pH 6.5			
7			<i>all-E-</i> 13Z-	381 375	361 364	443 442		543 547			+				4160 4340	353-П	н. д.	20°C, pH 6.5			
8			13Z-	373	347	427			550		+			~20	5240	353-П	35-37				
9			13Z-	325, 360				500			+			-		353-П	35-37	pH 6, <i>t</i> <sub>форм</sub> 2 сут при 40°C			
10			<i>all-E-</i>	382	370	455		572	564	+	+	+	~6	4500 4250	353-П	35-37					

Таблица. Продолжение

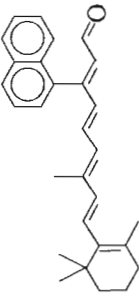
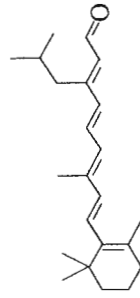
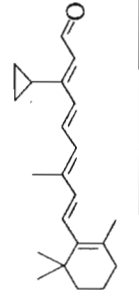
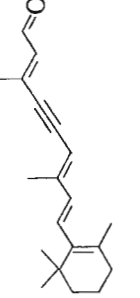
№ соединения	Полиеналь		$\lambda_{\text{max}}$ , нм [ε, M <sup>-1</sup> см <sup>-1</sup> ] <sup>3*</sup>							Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров all-E/13Z	OS <sup>+</sup> пигмента, см <sup>-1</sup>	BO <sup>*</sup> из	Примечания	Лит.
	Структура <sup>2*</sup>	Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>		Цикл	D → L	Деструкция							
11		13Z-	392	372	461				587		581	+	+	+	4660	353-П	pH 6, t <sub>форм</sub> 5 сут при 25°C	35-37
12		13Z-	379	355	435				500			+			2990	353-П		35
13		13Z-	382	346	426				555			+			5460	353-П		35
14		all-E- 13Z- 9Z- 9Z, 13Z- 7Z- 7Z, 9Z- 7Z, 13Z-	290sh, 364 [26100] 288sh, 358 [20300]	343 347	418 417				539 519	+	+	+	+	+	5370 4710	353-П	pH 6.0 pH 6.0 pH 6.0 pH 6.0 pH 6.0 pH 6.0 pH 6.0	57-60 57-60 58, 61 58, 61 58, 61 58, 61 58, 61

Таблица. Продолжение

№ соединения	Полиеналь		$\lambda_{\text{макс}}$ : нм [ $\epsilon$ , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$ ]*						Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров all-E/13Z	OS <sup>3*</sup> пигмента, $\text{см}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.																
	Структура <sup>2*</sup>	Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл	D → L							Деструкция															
15		all-E- all-E-	384 <sup>c</sup>	430-460	555	(P)	500, 540sh	D	500, 540	L	+	+	+	Слабый		353-П ПМ	рН 7.0, обратно, с ростом рН 540 → 500	62 63															
						~520, 560sh	+	-	-	-	-																						
						460sh 523																											
						460sh 527																											
16		all-E- all-E-	400		600	585	590	593	602	603	+	+	71		4560 S9	353-П	2.65 62																
																		[47500]	[52200]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17		all-E- all-E-	396	471	600	593	590	593	602	603	+	+	+++	95/5 рН 6.5	4370	ПМ RI	66 67																
																		[47500]	[52200]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		all-E-	400	470		+				603	+	+	+++		4690	353-П	28, 29																

Таблица. Продолжение

№	Полиеналь		$\lambda_{\text{макс}}$ : нм [ $\epsilon$ , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$ ]*						Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров <i>all-E</i> / <i>13Z</i>	$OS_{\text{L}}$ * пигмента, $\text{см}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
	Структура <sup>2*</sup>	Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>		Цикл	D $\rightarrow$ L	Деструкция						
18		<i>all-E-rac</i>	362 [43000]	420	420		(P) D L	452, dm ~475	+			>2.5 <16	1690 2760	353-П	Устойчив к вытеснению <i>all-E</i> -ретиналем в темноте	28, 29	
18a		<i>all-E-</i> <i>all-E-</i> (5S, 6R)	249, 365 <sup>a</sup> [45000]	421 <sup>a,d</sup>	421 <sup>a,d</sup>	Желтый 485 [41000] 480	478		+	+		7	3130 R1	R1M1	Формирование: $t_{1/2}$ 400 с, 10°C, устойчив к <i>all-E</i> -ретиналю: при 25°C $t_{1/2}$ замещ ~ 135 ч; КД(P): 460(+), 520(-)	65 70	
18b		13Z- <i>all-E-</i> (5R, 6S)	253, 358 <sup>a</sup> 249, 365 <sup>a</sup> [45300]	421 <sup>a,d</sup>	421 <sup>a,d</sup>	445 [41000], 490sh	445	+ $\epsilon$ < D на 5% + $\epsilon$ < D на 16%	+				96/4 1300 R1 48/52 1300 88/12		Формирование: $t_{1/2}$ 48 с, 10°C, устойчив к <i>all-E</i> -ретиналю: при 25°C $t_{1/2}$ замещ ~ 4,3 ч; КД(P): 435(+), 490(+) <sup>sh</sup>	70	
19		13Z- <i>all-E-</i>	253, 358 <sup>a</sup> 363	422	422	460							1960			н. д.	
20		<i>all-E-</i>	331	380	380	412	412						2040			н. д.	

Таблица. Продолжение

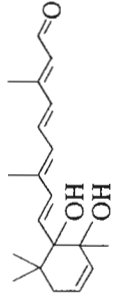
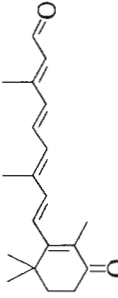
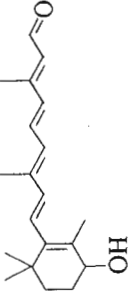
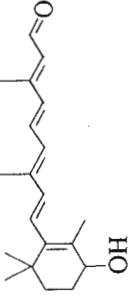
№ соединения	Полиеналь	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon, \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>										Фотореакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров <i>all-E</i> / <i>13Z</i>	$\text{OS}^5*$ пикмента, $\text{cm}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
		Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл	D ↕ L	Деструкция								
							(P)	D	L											
21	Структура <sup>2*</sup> 	<i>all-E-</i>	365						465										н. д.	
22		<i>all-E-</i>	294, 380 [43700]	445			506	506	506 $\epsilon < D$		+			2710	R1			26, 27		
		<i>all-E-</i>				+													71, 72	
23		<i>all-E-</i>	378 <sup>a</sup>	369 <sup>a</sup>	425 <sup>a</sup>	524	506						+	+	4400	ПМ			73, 74	
		<i>all-E-</i>	380	445				502	506				+	+	4050					
		<i>all-E-</i>							506				+	+	3890					
		<i>all-E-</i>											+	+	2710	353-П			28, 29	
		<i>13Z-</i>					527		+					+	+		353-П			25
23		<i>13Z-</i>	294, 373 [35300]				506	506	506 $\epsilon < D$			+	+						25	
		<i>all-E-</i>			437			525	527				+	+	3800	ПМ			47	
		<i>all-E-</i>					535	530					+	+	3900				75	
<i>all-E-</i>		370 <sup>c</sup>									+	+						63		

Таблица. Продолжение

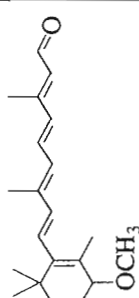
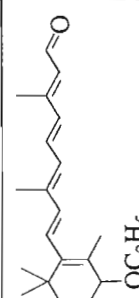
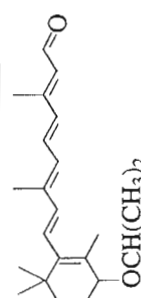
№ соединения	Полценаль		$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>							Фотореакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров all-E/13Z	OS <sup>5*</sup> пигмента, $\text{cm}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
	Структура <sup>2*</sup>	Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл	D $\rightarrow$ L	Деструкция						
24		<i>all-E-</i>		360	440			(P)	D	L	+				4550	ПМ		76
		<i>all-E-</i>				440												77
		<i>all-E-</i>	375			440					538, dm ~550	+				4140 4550	353-П	28, 29, 78
25		<i>all-E-</i>																26
		<i>all-E-</i>	370 [42000]			440	+				475, dm ~550	+				1680 4550	353-П	28, 29
26		<i>all-E-</i>	375 [40000]															26

Таблица. Продолжение

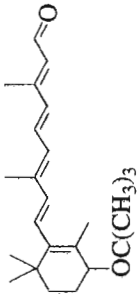
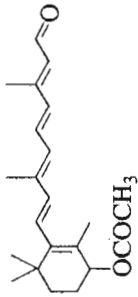
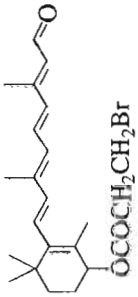
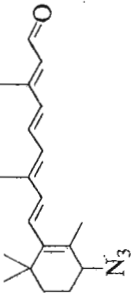
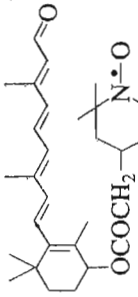
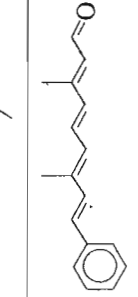
№ соединения	Полиеналь		$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>										Фотореакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров all-E/13Z	OS <sup>5*</sup> пикмента, $\text{см}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
			CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл	D → L	Деструкция									
	Изомер	Структура <sup>2*</sup>					(P)	D	L												
27	all-E-		375 [40500]			+	500-530										R1	26			
28	all-E-		375 [41000]			+	470										R1	26			
29	all-E-		375 [40500]			+	455										R1	26			
30	all-E-		272 [1300], 375 [39500]			+	475										R1	26			
31	all-E-		250 [4100], 370 [41500]			+	465										R1	26			
32	all-E-		391 [56700]	371	452			508		+							R1	5, 21			
	all-E-				455			480	504												
	all-E-			388 <sup>a</sup>	357, 372, 387	453			480	487		+					R1	79 80			



Таблица. Продолжение

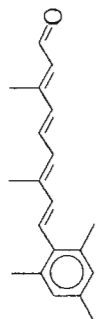
№ соединения	Полиеналь	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>							Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров all-E/13Z	OS <sup>5</sup> пигмента, см <sup>-1</sup>	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.	
		Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл	D → L							Деструкция
	Структура <sup>2*</sup>						(P)	D	L									
		all-E-	391 <sup>a</sup> [54600]		+	510					+		20-50			ПМ	Без NaCl: 512 → 509, pK ~ 8; 0.1 M NaCl: 512 → 480, pK 8.1 ± 0.2;	81
		all-E-	390 <sup>a</sup>	452	430/460	480, 520 dt530		505			+		+/-	1290	R1M1	5 mM фосфат, pH 6.8, +50% глицерин: (P) → P470, pK 10	82	
		all-E-	385	448			507				+		~20/80	2600	ПМ		83	
		all-E-		448		512		512			+			2790	ПМ		76	
		all-E-	391	452	+	512			+		+	++		2790	353-П	pH 6.0	22, 29	
		13Z-		448		+	499				+	-					22, 29	
		13Z-	385 [55400]	368				501			+			2280	R1	pH 6.0-6.5	21, 23	
		13Z-				+					+			2360			82	
33		all-E-	380 [50800]	359	439	460 [39000]	474	485			+			1680	R1	pH 6.5	5, 21	
		all-E-	384 <sup>a</sup> [46500]			460 [39000]	460	460	460 шире и $\epsilon < D$		+		+/-	2160	R1	pH 7.0	84	
		all-E-	380 <sup>a</sup>	442		460 ХВОСТ $\lambda > 500$ dt 535					+		+/-	890	R1M1	50% глицерин pH 6.6	82	

Таблица. Продолжение

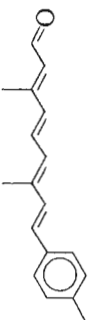
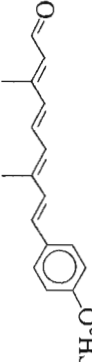
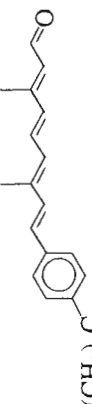
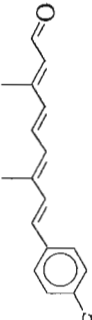
№ соединения	Полиеналь Структура <sup>2*</sup>	Изомер	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>						Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров <i>all-E/13Z</i>	$OS_{\text{max}}^*$ пикмента, $\text{см}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.		
			CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл	D → L							Деструкция	
							(P)	D	L										
34		13Z-	375 [49700]	352	436			490	~485		+			~15/85	3930 2010 2530 2320	R1	pH 6.5	21, 23	
		<i>all-E</i> -	395 [48100]	373	463		493	503		+					1320 1720 1700 1750	R1 ПМ	pH 6.5	21 47	
		<i>all-E</i> -	389 [45200]	369	456		505	498		+					66/34 30/70	2130 1850	R1	pH 6.5	5, 21
		<i>all-E</i> -	404 [49600]		471		530	521		+						2360 2040	R1	pH 6.5	5, 21
35		13Z-	400 [49800]	379	474		512	520		+				1570 1870				21, 23	
		<i>all-E</i> -	397.5 [49700]	376	462		491	494		+					1280 1400	R1	pH 6.5	21	
36		13Z-	390 [51600]	372	460		493	495		+				1460 1540	R1		pH 6.5	21, 23	
		<i>all-E</i> -	387.5 [47700]	369	452		524	510		+					3040 2520	R1	pH 6.5	5, 21	
37		<i>all-E</i> -				+				+						353-П	pH 6.0	22, 59	
		<i>all-E</i> -				+				+						353-П	pH 6.0	22, 59	
		13Z-					+									353-П	pH 6.0	22, 59	
13Z-		383 [43200]	366	443		503	508							2690 2880		pH 6.5	21, 23		

Таблица. Продолжение

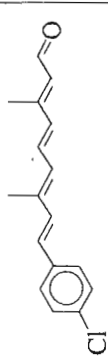
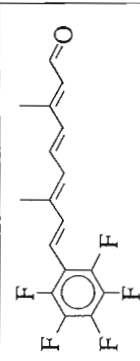
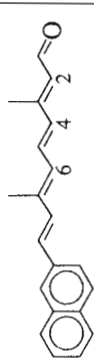
№ соединения	Полиеналь Структура <sup>2*</sup>	Изомер	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>							Пигмент <sup>4*</sup>			Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров <i>all-E</i> / <i>13Z</i>	OS <sub>5</sub> <sup>*</sup> пигмента, $\text{см}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
			CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	(P)	D	L	Цикл	D $\leftarrow$ L	Деструкция	+ / -	+ / -	+ / -						
38		<i>all-E</i> - 13Z-	389 [46500] 385 [42100]	375 369	450 439		518 503		506 506			+	+			2920 2460 2900 3020	R1		5, 21, 23		
39		<i>all-E</i> - <i>all-E</i> - 13Z- 13Z-	367				493, 460sh 496	474 +			+	+	+	+			R1	pH 6.5	н. д. 31 31 23		
40		<i>all-E</i> - 2Z- (13Z-) <i>all-E</i> - 2Z- 6Z- (9Z-)	395 390 395 <sup>c</sup>				493 498 492	501 495 497			+	+	+	+			353-П		н. д. н. д. 63 63 63		

Таблица. Продолжение

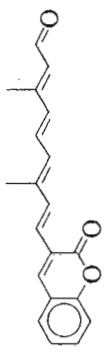
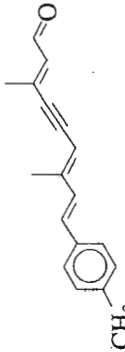
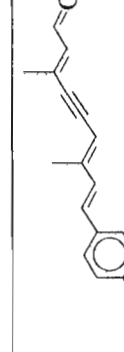
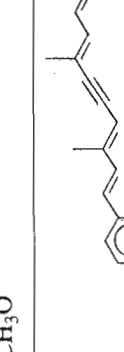

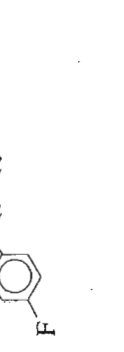
№	Полиеналь	Изомер	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $M^{-1} \text{cm}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>							Фото-реакции			$H^+$ -транспорт, %	Соотношение изомеров <i>all-E/13Z</i>	$OS_{\text{п}}^*$ пикмента, $cm^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
			CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл	D $\rightarrow$ L	Деструкция						
Структура <sup>2*</sup>				(P)	D	L												
41		<i>all-E-</i>	407	394	460	475					+			690	353-П		24	
42		13Z-	368 [37700]	358	432	485		450						2530 930	R1		21, 23, 26	
43		13Z-	379 [38300]	366	444	493		462						2240 780	R1	pH 6.5	21, 23, 26	
44		13Z-	368 [34800]	357	431	473		466						2060 1270	R1	pH 6.5	21, 23	
45		<i>all-E-</i>				+					+				353-П	pH 6.0	31	
		13Z-	359 [25400]	354	428	474		451			+			2270 1190	R1	pH 6.5	21, 23	
46		13Z-	358 [31700]	353	426	475		442						2370 850	R1		21, 23	

Таблица. Продолжение

№ соединения	Полиеналь		$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>										Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров <i>all-E</i> / <i>13Z</i>	$\text{OS}^*_5$ пикмента, $\text{см}^{-1}$	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
	Структура <sup>2*</sup>	Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл	D → L	Деструкция									
47		13Z-	357 [38000]	352	423							471	L	448			2410 1320		21, 23		
48		13Z-	357 [28700]	343	415							468		447			2730 1730		21, 23		
49		13Z-	347	339	411							442		423			1710 690		23		
50		13Z-	274, 368									481		475					н. д.		
51		<i>all-E-</i>	410	372	460	443	608										5290	353-П	$t_{\text{форм}}$ 14 сут, устойчив к вытеснению <i>all-E</i> -ретиналем в темноте	44	
		<i>all-E-</i>	411 <sup>a</sup>		475 <sup>a</sup>		608										4600	R1S9		43	
52		<i>all-E-</i>	410	385	485	487	624										4600	353-П	Устойчив к вытеснению <i>all-E</i> -ретиналем в темноте	44	
		<i>all-E-</i>	411 <sup>a</sup>		480 <sup>a</sup>		624										4800	R1S9		43	
53		<i>all-E-</i>	393	371	460	420												353-П		44	
		<i>all-E-</i>	395 <sup>a</sup>		466 <sup>a</sup>													R1S9		43	

Таблица. Продолжение

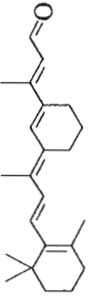
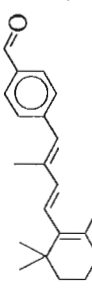
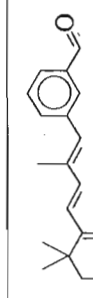
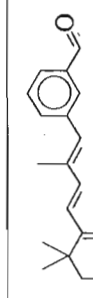
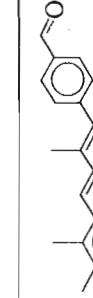
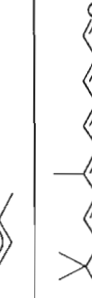
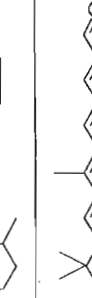
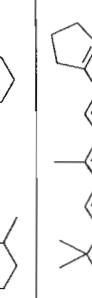
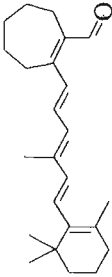
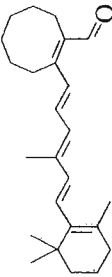
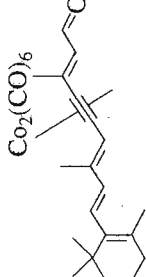
№ соединения	Полиеналь		$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $M^{-1} \text{ см}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>										Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров all-E/13Z	OS <sup>4*</sup> , пикмента, $\text{см}^{-1}$	BO <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
			Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>		Цикл	D → L	Деструкция	-	-	-						
								(P)	L												
54	Структура <sup>2*</sup> 		all-E-	393	355	485	428	-	-	-	-	-	-	-	-	353-П	44				
			all-E-	395 <sup>a</sup>		465 <sup>a</sup>		-	-	-	-	-	-	-	-	R1S9	43				
55			E-	336	324	390	325, 425	-	-	-	-	-	-	-	-	R1	38				
56			E-	337			428	-	-	-	-	-	-	-	-	ПМ	85				
56			E-	265, 295			343, 360	-	-	-	-	-	-	-	-	ПМ	39				
57			E-	326 [27500]			+	-	-	-	-	-	-	-	-	R1	38				
58			all-E-	391	363	440	430	562								353-П	43, 44				
				381 <sup>a</sup>		464 <sup>a</sup>											Устойчив к вытеснению all-E-ретиналем в темноте				
59			all-E-	384	362	440	393	-								353-П	43, 44				
				374 <sup>a</sup>		460 <sup>a</sup>															
60			13Z-	376 [42000]	360	442	370sh, 395sh, 420, 440sh	550								353-П	41, 42, 44				
																	рН 6, 20°C t <sub>форм</sub> 72 ч, устойчив к вытеснению all-E-ретиналем в темноте; обратимый гидролиз при освещении				

Таблица. Продолжение

№ соединения	Полиеналь		$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ε, М <sup>-1</sup> см <sup>-1</sup> ] <sup>3*</sup>								Фото-реакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров all-E/13Z	OS <sup>5*</sup> пигмента, см <sup>-1</sup>	BO <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.
			CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>		Пикл	D	L	Деструкция							
							(P)	D					L						
	Изомер																		
	Структура <sup>2*</sup>																		
	13Z-		366 <sup>c</sup>		440	370sh 395sh 422, 440sh	547								4480		22°C, t <sub>форм</sub> 66 ч	33, 86	
	13Z-						547, 600											87	
61		13Z-	370	365	445	420	550								4220		Формирование ~220 ч	41, 42, 44	
62		13Z-	370	365	445	415	-								-			42, 44	
63		13Z-	370 [42000]	356	439	370sh 395sh 415 430sh	-								-			40	
64		13Z-	327, 369	338	420	343	-											39	

Таблица. Окончание

№ соединения	Полиеналь Структура <sup>2*</sup>	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм [ $\epsilon$ , $\text{M}^{-1} \text{см}^{-1}$ ] <sup>3*</sup>						Фотореакции			Н <sup>+</sup> -транспорт, %	Соотношение изомеров <i>all-E</i> /13Z	$\text{OS}_{\text{с}}^{-1}$ пигмента,	БО <sup>6*</sup> из	Примечания	Лит.		
		Изомер	CHO	SB	SBH <sup>+</sup>	NC	Пигмент <sup>4*</sup>			Цикл							D $\uparrow$ L	Деструкция
							(P)	D	L									
65		13Z-	364	352	435	-	-	-	-	-	-	-	-	353-П	41, 44			
66		13Z-	358	348	431	-	-	-	-	-	-	-	-	353-П	41, 44			
67		13Z-	318, 590	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	353-П	88			

\* Сокращения: OS – белковый сдвиг; SB – основания Шиффа; SBH<sup>+</sup> – протонированная форма оснований Шиффа; P – пигмент; NC – нековалентный комплекс, рК<sub>a</sub> – рК альдимины или его аналога в БР.

Обычно исследование по получению аналогов БР и изучению их свойств проводят при рН, близких к нейтральным (рН 6-7); если рН и температура, при которых проводили реакцию БО и полиенала (и другие измерения), указаны в публикации, то эти значения приведены в графе “Примечания”. Там же даны сведения об особенностях переходов спектральных форм в щелочной области и некоторых других нестандартных свойствах пигментов (времени формирования пигмента, если он существенно отличается от БР, склонности к гидролизу и т.д.). Таблица не включает информацию о протонтранспортном фотоцикле с М-интермедиагом у пигментов с 13Z-хромоморфом при высоких значениях рН. (+) – наличие качества, но без количественной оценки; (–) – отсутствие качества; незаполненная графа – отсутствие данных; н. д. – неопубликованные данные авторов; sh – плечо.

<sup>2\*</sup> Структуры полиеналей даны только для *all-E*-изомеров и, кроме аналога (16), для их 6-5-цис-форм.

<sup>3\*</sup>  $\lambda_{\text{макс}}$  соединений CHO, SB, SBH<sup>+</sup> приведены для растворов в метаноле (без индекса), этаноле (а), изопропаноле (b), гексане (с); d – альдимин получен с моноэтанололамином (остальные – с бутиламином),  $\text{fpm}(\lambda_{\text{макс}})$  – максимум согласно минимуму спектра дифференциальных фотоиндуцированных изменений,  $\text{dt}(\lambda_{\text{макс}})$  – из разности спектров поглощения, снятых при разных температурах.

<sup>4\*</sup> Состояния пигментов (ковалентных альдиминсодержащих комплексов), рассмотренных в таблице: L – световой (адаптированный к свету), D – темновой (адаптированный к темноте), (P) – пигмент, о котором неизвестно, к какой форме (световой или темновой) относится  $\lambda_{\text{макс}}$  или препарат получен в темноте, но это заведомо не равновесная темновая форма, к которой происходит возврат в темноте после освещения или в случае длительного хранения образца.

<sup>5\*</sup> (OS) = 1 $\lambda$ (SBH<sup>+</sup>) – 1 $\lambda$ (пигмента) [89].

<sup>6\*</sup> В графе “БО из” указан штамм, с которым исследовали максимум поглощения пигмента, или тип мембран (белые или пурпурные), использованный авторами. Во всех случаях из ретинолсодержащих штаммов БО получали с помощью светозависимого гидроксиламинолиза.



биотрансформация аналогов ретиналя. Поэтому необходим большой избыток аналога ретиналя, что не всегда представляется возможным. С другой стороны, разные методы, даже с использованием вполне стабильных полиеналяей, иногда приводят к пигментам, различающимся фотохимическими свойствами [37]. Так, 13-этил-БР [35, 37], полученный нами исходя из ПМ, подвергнутых гидроксиламинолизу, и аналога ретиналя (4), обладал способностью к световой и темновой адаптации, тогда как препарат, приготовленный добавлением синтетических полиеналяей к культурам "белого" штамма, был ее лишен [52].

На наш взгляд, для приготовления аналогов БР оптимально использовать ПМ, подвергнутые гидроксиламинолизу на свету при рН 7.0 и 0–5°C.

В некоторых случаях при получении этим методом аналогов БР для фотохимических исследований необходимо удалять ретинальоксим, образующийся при гидроксиламинолизе, или избыток полиеналя экстракцией органическими растворителями или обработкой растворами бычьего сывроточного альбумина или  $\beta$ -циклодекстрина [28, 29, 35, 37, 90]. Это вызвано тем, что некоторые полиеналя встраиваются в БО в течение нескольких суток и ретинальоксим, содержащийся в АМ, может частично гидролизиться, что приводит к появлению примеси природного БР в препарате. Кроме того, присутствие ретинальоксима влияет на некоторые свойства ПМ, в частности вносит искажения в их спектры поглощения и другие оптические параметры. Наконец, удаление ретинальоксима способствует встраиванию в АМ таких полиеналяей, сродство которых к БО относительно мало (например, 13-*трет*-бутил- (9) и 13-нафтилретиналь (11)). Однако, как показали наши исследования, такая обработка несколько уменьшает стабильность препарата АМ, а при использовании метил- $\beta$ -циклодекстрина наблюдается небольшой гипсохромный сдвиг максимума поглощения пигментов, по-видимому, из-за частичного удаления липидов [90]. Мы не обнаружили различия между аналогами БР, полученными с использованием штаммов R1 и 353-П, однако в контрольных экспериментах со штаммом ET1001 цикл превращений (ПМ  $\rightarrow$  (гидроксиламинолиз)  $\rightarrow$  АМ + *all-E*-ретиналь  $\rightarrow$  ПМ) приводил к 2–3-кратному замедлению релаксации М-интермедиата [37].

## СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ АНАЛОГОВ БР

Как следует из анализа всех имеющихся литературных данных, варьируя природу заместителей в хромофоре, можно направленно изменять положение максимума основной полосы в спектрах аналогов БР в достаточно широком диапазоне (от 412 до 830 нм), однако не все эти пигменты

способны к циклическим фотохимическим превращениям.

Взаимодействие полиеналяей с БО начинается с образования нековалентного комплекса с  $\lambda_{\text{макс}}$  в области 390–460 нм, который затем может, хотя и не всегда, превратиться в пигмент. Такое превращение обычно сопровождается батохромным сдвигом полосы поглощения, отражающим образование альдимины. Строгое отнесение продукта взаимодействия к комплексам или пигментам иногда сделать достаточно сложно.

Возможность количественной оценки хромофор-белкового взаимодействия весьма проблематична. Наиболее разумный параметр для этого – так называемый белковый сдвиг, предложенный в 1980 г. Наканиши и соавт. [89], широко применяется до настоящего времени (см. таблицу). Ничего лучшего придумать пока не удалось, однако более чем десятилетнее использование этого безусловно полезного параметра выявило некоторые противоречия.

Во-первых, Люгтенбургом показано [51, 91–93], что остаток полиеналя в БР обычно принимает *6-s-транс*-конформацию, если она вообще для него возможна. В растворе соотношение равновесных концентраций *6-s-транс*- и *6-s-цис*- изомеров протонированного альдимины зависит как от его структуры, так и от условий измерения. Так как в общем случае определить  $\lambda_{\text{макс}}$  *6-s-транс*-конформера протонированного альдимины в растворе невозможно, вклад соответствующего спектрального смещения входит в белковый сдвиг как зависящая от соединения систематическая ошибка.

Во-вторых, определение белкового сдвига затруднено для многих аналогов БР с уширенной полосой поглощения. Такое уширение, а иногда появление нескольких максимумов объясняется существованием нескольких спектральных форм. Степень симметрии спектра зависит от соотношения величин молярных коэффициентов поглощения этих форм, причем при близких интенсивностях соседние пики сливаются и тогда белковый сдвиг часто оценивается в области наиболее длинноволновой части полосы поглощения. К тому же в некоторых работах (см., например, [82]) она представлена как плечо в разностных спектрах, снятых при разной температуре. Несоответствие такой оценки обычной очевидно, но в какой мере, пока неясно.

На основе данных о спектральных характеристиках аналогов БР с частично гидрированными хромофорами Наканиши предложил модель активного центра БР [86, 89], названную "моделью с двумя внешними зарядами" (рис. 1а). Эта модель позволила объяснить батохромный сдвиг основной полосы поглощения при образовании пигментов. Позднее Люгтенбургом при помощи  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии в твердом теле пигментов, меченных

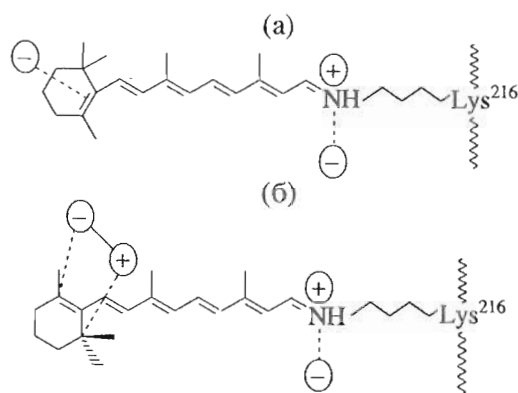


Рис. 1. Модели структуры хромофорного центра БР: (а) – модель двух внешних зарядов [89]; (б) – усовершенствованная модель с 6-*s-транс*-конформацией триметилциклогексенового кольца по данным Люгтенбурга [51, 91–93].

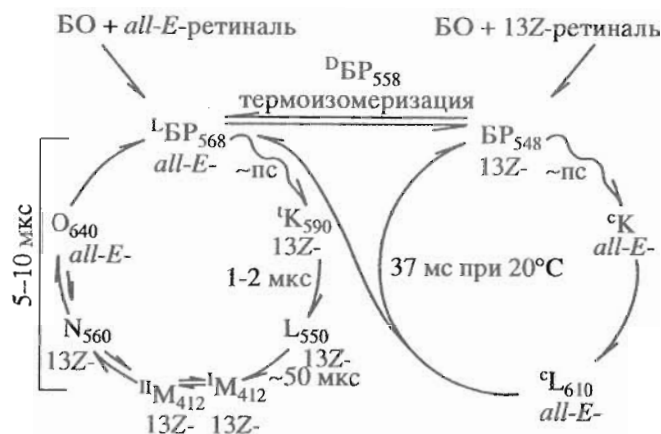


Рис. 2. Фотоцикл БР в пурпурных мембранах (водная суспензия, pH ~ 7, комнатная температура) ([2, 94–97] и собственные данные). Верхние индексы “с” и “t” относятся к циклам *цис*- и *транс*-производных БР, а “L” и “D” означают световую и темновую формы пигментов. Нижние индексы соответствуют положению максимума поглощения интермедиатов фотоцикла (в нм).

изотопами  $^{13}\text{C}$  в определенных положениях хромофорной группы, а также при изучении спектральных характеристик аналогов БР с закрепленной 6-*s-транс*- и 6-*s-цис*-конформацией была предложена усовершенствованная модель (рис. 1б) [51, 91–93].

### ФОТОХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ АНАЛОГОВ БР

В ходе фотоцикла БР последовательно превращается в спектрально различные интермедиаты (формы) и возвращается в исходное состояние (рис. 2). Если после серии переходов происходит стабилизация нового состояния, говорят о световой адаптации. В результате такого процесса 13Z-БР ( $\lambda_{\text{макс}}$  548 нм) (с квантовым выходом ~0.03 при

20°C [4]) превращается в *all-E*-БР ( $\lambda_{\text{макс}}$  568–570 нм) –  ${}^L\text{BR}_{568}$ . Темновая адаптация (термоизомеризация) приводит к смеси этих изомеров –  ${}^D\text{BR}_{558}$  ( $\lambda_{\text{макс}}$  558–560 нм), причем переходы между  ${}^L\text{BR}_{568}$  и  ${}^D\text{BR}_{558}$  обратимы. Однородный препарат  $\text{BR}_{548}$  можно получить только при взаимодействии БО с 13Z-ретиналом [2, 48].

Фотоцикл у *all-E*-БР изучен существенно лучше, чем у 13Z-БР. Стандартные методы исследования фотоцикла – спектрофотометрия с высоким временным разрешением (импульсная спектроскопия) и низкотемпературная спектрофотометрия. К-Интермедиат образуется даже при температуре жидкого азота. При –140 ... –130°C фотоцикл доходит до формы L, и при –80 ... –90°C он останавливается на форме M. При температуре выше –50°C фотоцикл совершает полный оборот, и свойства всех интермедиатов можно исследовать только кинетическими методами [2, 4].

Влияние модификации хромофора изучено в основном применительно к скорости оборота фотоцикла, свойствам интермедиатов его первой половины и к эффективности протонного транспорта. Что касается квантового выхода, крайне сложно определить не только его абсолютные значения, но даже его отношение к квантовому выходу нативного БР [2, 4, 96]. Считается, что у БР квантовый выход не зависит от температуры и одинаков для K-, L- и M-интермедиатов. Поэтому он может быть измерен не только с помощью дорогостоящей аппаратуры с пикосекундным разрешением, но и обычной импульсной или низкотемпературной спектрофотометрией. Однако в общем случае подобное заключение неверно для аналогов БР. Например, у *all-E*-11,12-дидегидро-БР (14)\* квантовый выход формы K уменьшается, а флуоресценция возрастает при понижении температуры до –196°C [60]. Полнота переходов K → L и L → M у аналогов хромопротеида систематически никем не исследована, к тому же отдельные интермедиаты в фотоциклах аналогов могут не наблюдаться (например, форма O у 13-фенил-БР (10) [37]). Что это означает, не всегда ясно. Можно предположить, что скорости образования и распада таковы, что искомый интермедиат кинетически неразличим. Альтернативная гипотеза включает столь глубокое изменение фотоцикла, что данный интермедиат действительно не возникает. В любом случае у некоторых аналогов БР нельзя исключить частичный возврат интермедиатов K или L непосредственно в исходную форму, т.е. “закорачивание” цикла, подобное фотообратимости начальных стадий цикла нативного БР [4].

\* Шифр аналога БР здесь и далее соответствует маркировке аналога ретиналя в таблице.

Тем не менее при комнатной температуре степень снижения интенсивности основной полосы поглощения после освещения короткой вспышкой света является достаточно хорошей оценкой квантового выхода. У всех исследованных нами аналогов БР квантовый выход не превышал 70% от величины, свойственной нативному БР [22, 25, 28, 29, 36, 37]. Даже у 3,4-дидегидро-БР (17), весьма близкого по свойствам БР, уже наблюдается снижение квантового выхода. Большая величина белкового сдвига оказалась необходимым, но не достаточным условием для наличия у аналогов БР большого ( $\geq 50\%$  по сравнению с БР) квантового выхода. К пигментам с большим квантовым выходом могут быть отнесены, например, 4-кето-БР (22), 4-гидрокси-БР (23), 11,12-дидегидро-БР (14), 13-этил-БР (4), а также аналоги, в которых иононовое кольцо в хромофоре заменено фенильным (32) или 4-фторфенильным (37) [22, 28, 29, 37, 57]. Обычно у пигментов с  $\lambda_{\text{макс}} < 500$  нм (например, 5,6-эпокси-БР (18), 4-метокси-БР (24) [28, 29]) эффективность фотоцикла заметно снижена.

Оказалось, что возможно полное отсутствие фотоцикла при таком же белковом сдвиге, как у БР, если блокирована изомеризация остатка полиеналя по C13=C14-связи [40, 42, 86]. Именно с такими аналогами была окончательно доказана невозможность образования формы К и всех последующих интермедиатов без фотоизомеризации хромофора. Квантовый выход может также уменьшиться, если модификация хромофора затрудняет конформационные изменения в ходе фотоцикла. Например, у 13-дезметил-БР (2), в котором нарушено хромофор-белковое взаимодействие в области, контролирующей изомеризацию, квантовый выход заметно снижен, хотя белковый сдвиг такой же, как у БР [37, 55]. Аналогично влияние больших по размеру, как плоских (13-нафтил-), так и особенно неплюских (13-трет-бутил-) C13-заместителей [37]. Белковые сдвиги у таких аналогов могут быть больше, чем, например, у 4-гидрокси- (23) и 4-кето-БР (22) [29, 37], но в отличие от последних у 13-нафтиланалога (11) эффективность фотоцикла существенно меньше. Заметное снижение квантового выхода М-интермедиата наблюдается уже у 13-изопропил-БР (8), также обладающего значительным белковым сдвигом (см. таблицу). Значительное снижение эффективности фотоцикла при большом белковом сдвиге, по-видимому, указывает на существование участков хромофора, критичных для изменений конформации белка при образовании интермедиатов.

Большое значение в изучении фотоцикла аналогов БР представляет М-интермедиат вследствие своего непосредственного участия в протонном транспорте. Во всяком случае до сих пор в нейтральных средах и при использовании достаточно чувствительных методов корреляция между суще-

ствованием формы М и переносом протонов наблюдалась всегда [28, 29]. Определенная трудность возникает при интерпретации данных с аналогами БР, полученными в виде смеси нескольких форм. Спектрально это проявляется в уширении основной полосы поглощения и в кажущемся увеличении молярного коэффициента поглощения М-интермедиата [29]. При использовании монохроматического возбуждающего света в дифференциальных спектрах могут наблюдаться несколько относительно узких полос обесцвечивания [29, 83]. Примером здесь будут спектры рацемического 5,6-эпокси-БР (18) при возбуждении синим (347 нм) и зеленым (532 нм) лазерными импульсами [29]. При этом более коротковолновая отрицательная полоса близка к максимуму поглощения пигмента, а длинноволновая (~475 нм) – к максимуму полосы поглощения пигмента, включающего один из энантиомеров этого аналога [70]. Уширение фотоиндуцированной полосы выцветания и ее сдвиг относительно полосы поглощения у 4-метокси-БР (24) также свидетельствуют о полиморфности пигмента [29].

Высушивание ПМ, действие на них детергентов, диэтилового эфира, диметилсульфоксида, хаотропных агентов, солей поливалентных металлов и других агентов обычно замедляют распад М-интермедиата. Аналогичное замедление формы М часто происходит при модификации хромофора БР. Обычно степень замедления коррелирует с общими нарушениями структуры пигмента (подробнее см. [22, 25, 28, 29, 31, 34, 37, 57, 98]). Более необычно замедление распада интермедиата N, наблюдаемое у 4-гидрокси-БР (23) в водной суспензии в обычных условиях [29]. Этот феномен делает данный аналог весьма удобным объектом для исследования N-интермедиата.

Детальное исследование фотохимии 13Z-БР и его аналогов стало возможным только с применением соответствующих 13Z-полиеналей высокой степени чистоты ( $\geq 99.9\%$ ). При нейтральных значениях pH фотоцикл БР<sub>548</sub> не связан с протонным транспортом и не включает М-интермедиат. БР<sub>548</sub> → БР<sub>568</sub>-переход, скорее всего, сопровождается трансмембранным переносом одного H<sup>+</sup>-иона [48, 49], однако неясно место ответвления от фотоцикла реакций, ведущих к световой адаптации. Предполагается, что превращение в БР<sub>568</sub> происходит без дополнительной изомеризации хромофора (после 13Z → all-E-фотоизомеризации, но до обратного 13E → 13Z-перехода, рис. 2) [47].

При pH > 9 БР переходит в щелочную пурпурную форму. Фотоцикл щелочной формы 13Z-БР был впервые исследован нами [59, 99–104], причем оказалось, что он включает М-интермедиат, сопряженный с протонным транспортом. Применение аналогов с сильно замедленными темновой

и световой адаптациями позволило установить близость выходов М-интермедиата у нейтральной формы *all-E*-11,12-дидегидро-БР (14) и щелочной формы 13Z-11,12-дидегидро-БР (14) (похожие результаты для 13Z-13-дезметил-БР (2) см. [105]).

*all-E*-4-Кето-БР (22) обладает медленным фотоциклом при большом квантовом выходе [25, 28, 29]. Поэтому хромопротеид (22), несомненно, не только полезен для практического применения в светочувствительных материалах, но также является удобным объектом для исследований трансформации хромофорного центра в течение фотоцикла. Этот эффект весьма специфичен и не проявляется даже у 4-гидрокси-БР (23). Различия во взаимодействии 4-гидрокси- и 4-кетогруппы с окружающими их аминокислотными остатками белка ожидают для своей интерпретации компьютерного моделирования хромофорного центра.

В обычных условиях (рН 7.0; 25°C) БР почти полностью адаптируется к темноте в течение 1 ч [106]. Близкие БР аналоги, например 3,4-дидегидро-БР (17), ведут себя сходно. Однако у других аналогов этот процесс обладает рядом особенностей, часто сопутствующих друг другу. Во-первых, могут снизиться скорости как темновой, так и световой адаптации. Так, у кумаринового аналога (41) оба процесса по сравнению с БР замедляются примерно в 6 раз при сохранении обратимости, а у 13-дезметил-БР (2) термоизомеризация занимает около 2 сут [55]. Аналоги, в которых иононовое кольцо заменено фенильным или двойная связь C11=C12 заменена тройной (а также при сочетании этих модификаций), обладают еще более медленной термоизомеризацией [22, 25, 31, 57]. У 11,12-дидегидро-БР (14) световая адаптация замедлена примерно в 80 раз, а темновая требует многих суток.

Другие формы изменений адаптации – увеличение доли 13Z-изомера в темновом препарате (отчетливо выраженное у 13-изопропил-БР (8) [37] и достигающее до 85% у 13-дезметил-БР (2) [55]) и появление *all-E* → 13Z-перехода при световой адаптации [22, 25, 31, 57]. В последнем случае, как и с БР<sub>548</sub>, чистый *all-E*-аналог БР можно получить только при взаимодействии БО с *all-E*-изомером соответствующего полиеналя, и то если термоизомеризация идет существенно медленнее формирования хромопротеида. Подобными свойствами обладают 4-кето-БР (22), ацетиленовый аналог (14), аналоги с C13-заместителями большого размера (10), (11) или с заменой иононового кольца на фенильное (32), 4-фторфенильное (37), пентафторфенильное (39), мезитиленовое (33), 4-хлорфенильное (38), ацетиленовый аналог с 4-фторфенильным кольцом (45), однако имеются указания, что и все остальные ароматические аналоги (34)–(36), (40), (42)–(44), (46)–(49) относятся к этому типу (см. таблицу).

БР в пурпурных мембранах без разрушения может претерпевать сотни фотоциклов [96]. Незначительное снижение поглощения происходит при использовании крайне интенсивного света, однако оно несравнимо со светоиндуцированным обесцвечиванием некоторых аналогов БР [33, 37, 40, 42, 58]. Природа их фотодеструкции требует изучения и, возможно, различна. У неизомеризующихся 13Z-аналогов с циклопентеновым (60) или 2'-метилциклопентеновым (61) кольцом происходит гидролиз альдиминной связи. Этот процесс обратим, и пигмент в темноте восстанавливается за несколько дней, т.е. со скоростью, отвечающей взаимодействию соответствующего альдегида с БО [40, 42]. Ранее было показано, что в солюбилизованном тритоном X-100 БР под действием света происходит гидролиз альдиминной связи [107].

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОРМЫ И РАЗМЕРА ХРОМОФОРНОЙ ПОЛОСТИ БР

Результаты, приведенные в таблице, показывают, какие элементы структуры хромофора особенно сильно влияют на фотохимические свойства и транспорт протонов в БР. В частности, это относится к критериям узнавания аналогов ретиналя белковой матрицей БР. В целом, однако, данные о фотохимии аналогов БР пока еще фрагментарны, что затрудняет интерпретацию результатов.

#### *а) Удлинение, конфигурация и степень ненасыщенности полиеновой цепи хромофора*

БО способен образовывать пигменты с полиеналями, имеющими полиеновую цепь больше, чем у природного ретиналя [2, 62–65]. Если у C<sub>22</sub>-БР (15) сохраняется фотоцикл и слабый протонный транспорт, то у C<sub>25</sub>-БР (16) фотоцикл почти не выражен. Еще более драматичное влияние оказывает изменение чередования кратных связей. Так, аналог C<sub>21</sub>-БР [62], хотя и имеет оптимальную длину, из-за ретроструктуры полиеновой цепи полностью лишен фотоцикла.

Менее заметное влияние оказывает изменение степени ненасыщенности полиеновой цепи хромофора, она должна содержать не менее трех сопряженных двойных связей. БО образует пигменты со многими частично гидрированными аналогами ретиналя [86, 89], однако при устранении даже одной двойной связи в 5,6-дигидро-БР эффективность протонного транспорта заметно снижается [108]. С другой стороны, при введении тройной связи в положение молекулы C7=C8 [109] или в C11=C12 [57–61] соответствующие хромопротеиды имеют фотоцикл и способны к транспорту протонов, хотя аналогичная модификация C13=C14-связи полностью блокирует образование хромопротеида [110].

Несомненно, наиболее сильно на результатах взаимодействия полиенала с БО сказывается конфигурация полиеновой цепи. В отличие от зрительных пигментов, апобелки которых "правильно" связываются только с 11Z- или 9Z-изомерами аналогов ретиналя, в БО, как считают, альдиминную связь с  $\epsilon$ -аминогруппой Lys<sup>216</sup> могут образовывать только *all-E*- и 13Z-изомеры ретиналя и его аналогов. Пока здесь известны только немногие исключения: 11Z- и 7Z-13-дезметилретиналь (2) [53–55] и 9Z-нафтилретиналь (40). При продолжительном освещении *all-E*-изомера 11,12-дидегидро-БР (14) нами был получен новый пигмент, хромофор которого идентифицирован как 9Z-11,12-дидегидроретиналь. Этот пигмент и его 9Z,13Z-изомер далее ресинтезировали из БО и соответствующих полиеналей [58, 61].

#### б) Модификации триметилциклоксенового кольца хромофора

Современные данные позволяют говорить об отсутствии жестких пространственных ограничений хромофорной полости БР вокруг кольца ретиналя. Поэтому образованию пигмента не препятствуют различные модификации кольца по C5, C4, C3, C2-положениям и C5=C6-связи и даже его удаление или замена на ароматические и гетероциклы, различающиеся как размером, так и электронной природой заместителей (см. таблицу) [5, 22–24, 28–30, 63, 76, 82, 83, 91–93, 111–117]. Дополнительно хотелось бы сделать ряд замечаний:

1. Практически для всех пигментов, содержащих достаточно объемные C4-заместители, характерен сильный гипсохромный сдвиг полосы поглощения в голубую область спектра (24)–(31).

2. Во всех C4-ацилоксипроизводных БР (28), (29), (31) сложноэфирная связь быстро гидролизуетсся с образованием 4-гидрокси-БР (23).

3. Асимметрия белковой полости в области кольца проявляется в чувствительности к ориентации заместителей у C3, C4 или C5 и C6-атомов кольца, приводящей в случае рацемических полиеналей к нескольким спектральным формам хромопротеида (ср. аналоги (18а,б); (26), (27)).

4. Электронная структура заместителей при C5-атоме может иметь решающее влияние на светозависимый транспорт протонов: замена метильной группы в положении C5 на трифторметильную полностью блокирует этот процесс [118].

5. Вероятно, большинство длинноволновых аналогов БР с полосой поглощения 700–830 нм, содержащих азуленовые или индольные кольца, лишены фотоцикла и не способны к световой адаптации.

#### в) C11–C12-участок полиеновой цепи хромофора

Совместно с проф. И. Люгтенбургом (Лейденский университет, Нидерланды) мы обнаружили в рассматриваемой области пространственные ограничения для хромофора. Это выяснилось при сравнении встраивания ряда полиеналей в БО (ср. (51), (52) и (53), (54), а также (55)–(57), (67)) [38, 39, 43, 44, 88], однако интерпретация полученных результатов требует дополнительных экспериментов с привлечением методов компьютерного моделирования и построением трехмерной модели.

#### г) C13–C15-участок полиеновой цепи хромофора

Данная область хромофора БР подвергалась наиболее интенсивному исследованию, так как изомеризация C13=C14-связи несомненно является частью фотохимического цикла БР. Впервые это было строго доказано Наканиши [33] с помощью аналогов с фиксированной конфигурацией двойной связи, а мы впоследствии синтезировали дополнительный ряд фиксированных аналогов БР – *all-E* (58), (59) и 13Z (60)–(66) [39–44], чтобы изучить пространственные ограничения хромофора в этой области. Из наших данных четко следует (ср. аналоги (58) с (59); (60), (61) с (62)–(66)), что различия в размерах полиеналей, критичные для формирования пигментов, составляют примерно 1.5 Å. В аналогах (60), (63), (64) кроме различий размеров цикла нельзя исключить и иных причин столь различного их поведения. Так, компьютерное моделирование показывает, что у полиенала (60) конформация близка к планарной, а в соединениях (63) и (64) формильная группа повернута на угол около 30° относительно плоскости сопряжения, что блокирует образование альдиминной связи с  $\epsilon$ -аминогруппой Lys<sup>216</sup>.

Сложнее интерпретировать данные о большой серии аналогов БР (2)–(13), содержащих заместители при C13-атоме ретиналя. Мы полагаем, что хромофорная полость в этом районе напминает плоскую щель и решающую роль играет не столько размер вводимой группы, сколько ее "объемистость": так, полиенали с крупными, но плоскими заместителями (нафтил-, фенил-) легче образуют с БО хромопротеид, чем полиеналь с *трет*-бутильной группой [35–37, 57].

В заключение необходимо отметить, что дополнительный интерес для структурных исследований хромофорного центра БР представляют полиенали, несущие разнообразные репортерные группы (спиновые (31), фотоаффинные (30), флуоресцентные (41)), а также – для локализации остатка хромофора в ПМ – производные, меченные атомами фтора или тяжелыми атомами (37), (39), (45), (49), (67).

Представленный в настоящем сообщении материал является прекрасной иллюстрацией использования аналогов ретиналя для исследований молекулярного механизма светозависимого протонного транспорта и третичной структуры БР.

Выполнение данной работы частично финансировалось грантами Российского фонда фундаментальных исследований (№ 94-04-12754а и 96-04-48886).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Oesterhelt D., Stoeckenius W.* // Nature (New Biologist). 1971. V. 233. P. 149–151.
2. *Stoeckenius W., Lozier R., Bogomolni R.A.* // Biochim. Biophys. Acta. 1979. V. 505. P. 215–279.
3. *Biophysical Studies of Retinal Proteins* / Eds T.G. Ebrey, V. Honig, H. Frauenfelder, K. Nakanishi. Urbana-Champaign: University of Illinois Press, 1987. 304 p.
4. *Балашов С.П., Литвин Ф.Ф.* // Фотохимические превращения бактериородопсина / Ред. А.А. Красновский. М.: МГУ, 1985. 168 с.
5. *Мицнер Б.И., Ходонов А.А., Звонкова Е.Н., Евстигнеева Р.П.* // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. С. 5–53.
6. *Imamoto Y., Shichida Y., Hirayama J., Tomioka H., Kato N., Yoshizawa T.* // Photochem. Photobiol. 1992. V. 56. P. 1129–1134.
7. *Holland E.M., Braun F.J., Nonnengasser C., Harz H., Hegemann P.* // Biophys. J. 1996. V. 70. P. 924–931.
8. *Nonnengasser C., Holland E.M., Harz H., Hegemann P.* // Biophys. J. 1996. V. 70. P. 932–938.
9. *Скулачев В.П.* Энергетика биологических мембран. М.: Наука, 1989. 564 с.
10. *Мицнер Б.И., Ходонов А.А.* // Светочувствительные биологические комплексы и оптическая регистрация информации / Ред. Г.Р. Иваницкий. Пущино: АН СССР, 1985. С. 38–49.
11. *The Retinoids. V. 1, 2* / Eds M.B. Spom, A.B. Roberts, D.S. Goodman. Orlando: Acad. Press, 1984.
12. *Chemistry and Biology of Synthetic Retinoids* / Eds M.I. Dawson, W.H. Okamura. Boca Raton: CRC Press, 1990. 615 p.
13. *Retinoids. Advances in Basic Research and Therapy* / Eds C.E. Orfanos, O. Braun-Falco, O. Farber, C. Grupper, M.K. Polano, R. Schuppli. B.: Springer-Verlag, 1981.
14. *Retinoids and Cell Differentiation* / Ed. M. Sherman. Boca Raton: CRC Press, 1986.
15. *Овчинников Ю.А., Абдулаев Н.Г., Фейгина М.Ю., Киселев А.В., Лобанов Н.А., Назимов И.В.* // Биоорган. химия. 1978. Т. 4. С. 1573–1574.
16. *Khorana H.G., Gerber G.E., Herlihy W.G., Gray C.P., Andregg R.J., Nihei K., Viemann K.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1979. V. 76. P. 5046–5050.
17. *Ermler U., Fritzsche G., Buchanan S.K., Michel H.* // Structure. 1994. V. 2. P. 925–936.
18. *Baciou L., Michel H.* // Biochemistry. 1995. V. 34. P. 7967–7972.
19. *Ходонов А.А., Мицнер Б.И., Звонкова Е.Н., Евстигнеева Р.П.* Способ получения 6Z- или 6E-изомеров (2E)-8-трифенилсилилокси-2,6-диметилукта-2,6-диен-4-ин-1-оля: А. с. СССР 1027168 // В.И. 1983. N 25.
20. *Ходонов А.А., Первушина Е.А., Мицнер Б.И., Звонкова Е.Н., Евстигнеева Р.П.* // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. С. 408–414.
21. *Ходонов А.А., Мицнер Б.И., Звонкова Е.Н., Евстигнеева Р.П.* // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. С. 238–251.
22. *Драчев А.Л., Зорина В.В., Мицнер Б.И., Хитрина Л.В., Ходонов А.А., Чекулаева Л.Н.* // Биохимия. 1987. Т. 52. С. 1559–1569.
23. *Мицнер Б.И., Ходонов А.А., Звонкова Е.Н., Карнаухова Е.Н.* // Тр. Междунар. конф. по ретинальсодержащим белкам / Ред. Ю.А. Овчинников. М.: Наука, 1989. С. 308–316.
24. *Ivanova D.I., Eremin S.V., Khodonov A.A., Mitsner B.I., Shvets V.I.* // Abstr. VIth Int. Conf. on Retinal Proteins. Leiden (The Netherlands), 1994. P. 112.
25. *Хитрина Л.В., Лазарова Ц.Р.* // Биохимия. 1989. Т. 54. С. 136–138.
26. *Серебряный В.А., Мицнер Б.И., Закис В.И., Цетлин В.И.* // Биоорган. химия. 1981. Т. 7. С. 1731–1733.
27. *Соколова Н.А., Мицнер Б.И., Закис В.И.* // Биоорган. химия. 1979. Т. 5. С. 1053–1058.
28. *Драчев А.Л., Драчев Л.А., Евстигнеева Р.П., Каулен А.Д., Лазарова Ц.Р., Лайхтер А.Л., Мицнер Б.И., Скулачев В.П., Хитрина Л.В., Чекулаева Л.Н.* // Биол. мембраны. 1984. Т. 1. С. 1125–1142.
29. *Drachev L.A., Drachev A.L., Chekulaeva L.N., Evstigneeva R.P., Kaulen A.D., Khitrina L.V., Khodonov A.A., Lazarova Z.R., Mitsner B.I.* // Arch. Biochem. Biophys. 1989. V. 270. P. 184–197.
30. *Хитрина Л.В., Данишина С.В., Драчев А.Л., Драчев Л.А., Каулен А.Д., Лазарова Ц.Р., Зорина В.В.* // Тр. Междунар. конф. по ретинальсодержащим белкам / Ред. Ю.А. Овчинников. М.: Наука, 1989. С. 321–325.
31. *Khitrina L.V., Khodonov A.A.* // Abstr. II Int. School: Electromagnetic Fields and Biomembranes. Pleven (Bulgaria), 1989. P. 145.
32. *Gartner W., Hopf H., Hull W.E., Scheutsov D., Oesterhelt D., Towner P.* // Tetrahedron Lett. 1980. V. 21. P. 347–350.
33. *Fang J.M., Carriker J.D., Balogh-Nair V., Nakanishi K.* // J. Am. Chem. Soc. 1983. V. 105. P. 5162–5164.
34. *Данишина С.В., Драчев А.Л., Драчев Л.А., Еремич С.В., Каулен А.Д., Мицнер Б.И., Хитрина Л.В., Чекулаева Л.Н.* // Биофизика. 1989. Т. 34. С. 623–626.
35. *Еремич С.В., Мицнер Б.И., Данишина С.В., Драчев Л.А., Каулен А.Д., Хитрина Л.В.* // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. С. 1484–1497.
36. *Еремич С.В., Мицнер Б.И., Данишина С.В., Хитрина Л.В.* // Биоорган. химия. 1988. Т. 14. С. 434–436.
37. *Danishina S.V., Drachev A.L., Drachev L.A., Eremin S.V., Kaulen A.D., Khitrina L.V., Mitsner B.I.* // Arch. Biochem. Biophys. 1990. V. 279. P. 225–231.
38. *Еремич С.В., Мицнер Б.И., Ходонов А.А., Евстигнеева Р.П.* // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. С. 256–259.

39. Еремин С.В., Мицнер Б.И., Звонкова Е.Н., Евстигнеева Р.П. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. С. 1116–1124.
40. Кириллова Ю.Г., Еремин С.В., Хитрина Л.В., Мицнер Б.И. // Биоорган. химия. 1993. Т. 19. С. 825–835.
41. Kirillova Yu.G., Eremin S.V., Khitrina L.V., Khodonov A.A. // Abstr. VIth Int. Conf. on Retinal Proteins. Leiden (The Netherlands), 1994. P. 120.
42. Кириллова Ю.Г., Хитрина Л.В., Ходонов А.А. // Биол. мембраны. 1993. Т. 10. С. 447–448.
43. Groesbeek M., Kirillova Yu.G., Boeff R., Lugtenburg J. // Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. 1994. V. 113. P. 45–52.
44. Кириллова Ю.Г. Синтез полиеновых альдегидов – аналогов ретиналя. Дис. ... канд. хим. наук. М.: МИТХТ, 1994.
45. Sheves M., Albeck A., Friedman N., Ottolenghi M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1986. V. 83. P. 3262–3266.
46. Schreckenbach T., Walckhoff B., Oesterhelt D. // Eur. J. Biochem. 1977. V. 76. P. 499–511.
47. Steinberg G., Friedman N., Sheves M., Ottolenghi M. // Photochem. Photobiol. 1991. V. 54. P. 969–976.
48. Dencher N.A., Rafferty C.N., Sperling W. // Ber. Kernforsch. 1976. P. 1–42.
49. Драчев А.Л., Драчев Л.А., Каулен А.Д., Скулачев В.П., Хитрина Л.В. // Биохимия. 1988. Т. 53. С. 707–713.
50. Schreckenbach T., Walckhoff B., Oesterhelt D. // Biochemistry. 1978. V. 17. P. 5353–5359.
51. Lugtenburg J., Muradin-Szweykowska M., Heermans C., Pardoen J., Harbison G.S., Herzfeld J., Griffin R.G., Smith S.O., Mathies R.A. // J. Am. Chem. Soc. 1986. V. 108. P. 3104–3105.
52. Gartner W., Oesterhelt D., Vogel D., Maurer R., Schneider S. // Biochemistry. 1988. V. 27. P. 3497–3502.
53. Broek A.D., Muradin-Szweykowska M., Lugtenburg J., van der Bend R.L., van Dijke P.W.M. // Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. 1983. V. 102. P. 42–46.
54. Broek A.D., Muradin-Szweykowska M., Courtin J.M.L., Lugtenburg J. // Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. 1983. V. 102. P. 46–51.
55. Gartner W., Towner P., Hopf H., Oesterhelt D. // Biochemistry. 1983. V. 22. P. 2637–2644.
56. Trissl H.-W., Gartner W. // Biochemistry. 1987. V. 26. P. 751–758.
57. Данишина С.В., Драчев А.Л., Драчев Л.А., Каулен А.Д., Мицнер Б.И., Хитрина Л.В., Ходонов А.А. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. С. 307–312.
58. Хитрина Л.В., Еремин С.В., Ходонов А.А., Каулен А.Д. // Биол. мембраны. 1994. Т. 11. С. 575–576.
59. Драчев Л.А., Каулен А.Д., Хитрина Л.В.; Еремин С.В., Ходонов А.А., Швец В.И., Чекулаева Л.Н. // Биохимия. 1993. Т. 58. С. 819–826.
60. Balashov S.P., Sineshchikov V.A., Mitsner B.I., Khodonov A.A., Khitrina L.V., Kurrella E.G. // Molecular Physiology of Retinal Proteins / Ed. T. Hara. Kyoto, 1988. P. 345–346.
61. Хитрина Л.В., Каулен А.Д., Еремин С.В., Ходонов А.А. // Молекуляр. биология. 1995. Т. 29. С. 1398–1407.
62. Khodonov A.A., Kirillova Yu.G., Eremin S.V., Khitrina L.V. // Abstr. VIth Inter. Conf. on Retinal Proteins. Leiden (The Netherlands), 1994. P. 119.
63. Tokunaga F., Govindjee R., Ebrey T.G., Crouch R. // Biophys. J. 1977. V. 19. P. 191–198.
64. Crouch R.K., Scott R., Ghent S., Govindjee R., Chang Ch.-H., Ebrey T. // Photochem. Photobiol. 1986. V. 43. P. 297–303.
65. Oesterhelt D., Christoffel V. // Biochem. Soc. Trans. 1976. V. 4. P. 556–559.
66. Spudich J.L., McCain D.A., Nakanishi K., Okabe M., Shimizu N., Rodman H., Honig B., Bogomolni R.A. // Biophys. J. 1986. V. 49. P. 479–483.
67. Marcus M.A., Lewis A., Racker E., Crespi H. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1977. V. 78. P. 669–675.
68. Iwasa T., Tokunaga F., Ebrey T.G., Yoshizawa T. // Photochem. Photobiol. 1981. V. 33. P. 547–557.
69. Tokunaga F., Ebrey T.G. // Biochemistry. 1978. V. 17. P. 1915–1922.
70. Hiraki K., Hamanaka T., Yoshihara K., Kito Y. // Biochim. Biophys. Acta. 1987. V. 891. P. 177–193.
71. Броун Л.С., Дружко А.Б., Чаморовский С.К. // Биофизика. 1992. Т. 37. С. 79–84.
72. Лукашев Е.П., Дружко А.Б., Кононенко А.А. // Биофизика. 1992. Т. 37. С. 86–90.
73. Beischel C.J., Mani V., Govindjee R., Ebrey T.G., Knapp D.R., Crouch R.K. // Photochem. Photobiol. 1991. V. 54. P. 977–983.
74. Williams T.C., Mani V. // Biochemistry. 1991. V. 30. P. 2976–2988.
75. Мицнер Б.И., Ходонов А.А., Серебряный В.А., Закус В.И., Цетлин В.И. // Тез. I Всесоюз. биофиз. съезда. М.: АН СССР, 1982. Т. 2. С. 114.
76. Шевес М., Албек А., Басов Т., Фридман Н., Оттоленги М. // Тр. Междунар. конф. по ретинальсодержащим белкам / Ред. Ю.А. Овчинников. М.: Наука, 1989. С. 132–139.
77. Sheves M., Baasov T., Friedman N., Ottolenghi M., Feinmann-Weinberg R., Rosenbach V., Ehrenberg D. // J. Am. Chem. Soc. 1984. V. 106. P. 2435–2437.
78. Lazarova Tz. // Bioelectrochem. Bioenerg. 1989. V. 22. P. 105–112.
79. Balogh-Nair V., Carriker J.D., Honig B., Kamat N., Motto M.G., Nakanishi K., Sen R., Sheves M., Tanis M.A., Tsujimoto K. // Photochem. Photobiol. 1981. V. 33. P. 483–488.
80. Derguini F., Bigge C.F., Crotea A.A., Balogh-Nair V., Nakanishi K. // Photochem. Photobiol. 1984. V. 39. P. 661–665.
81. Bayley H., Radhakrishnan R., Huang K.S., Khorana H.G. // J. Biol. Chem. 1981. V. 256. P. 3797–3801.
82. Maeda A., Asato A.E., Liu R.S.H., Yoshizawa T. // Biochemistry. 1984. V. 23. P. 2507–2513.
83. Umadevi P., Sheves M., Rosenbach V., Ottolenghi M. // Photochem. Photobiol. 1983. V. 38. P. 197–203.
84. Sonnewald U., Seltser S., Robison A.E., Packer L. // Photochem. Photobiol. 1985. V. 41. P. 303–307.
85. Muradin-Szweykowska M., Peters A.J.M., Lugtenburg J. // Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. 1984. V. 103. P. 105–109.

86. Balogh-Nair V., Nakanishi K. // Chemistry and Biology of Synthetic Retinoids / Eds M.I. Dawson, W.H. Okamura. Boca Raton: CRC Press, 1990. P. 147-176.
87. Tierno M.E., Mead D., Asato A.E., Liu R.S.H., Sekiya N., Yoshihara K., Chang C.-W., Nakanishi K., Govindjee R., Ebrey T.G. // Biochemistry. 1990. V. 29. P. 5948-5953.
88. Khodonov A.A., Khitrina L.V. // Abstr. VIth Inter. Conf. on Retinal Proteins. Leiden (The Netherlands), 1994. P. 118.
89. Nakanishi K., Balogh-Nair V., Arnaboldi N., Tsujimoto K., Honig B. // J. Am. Chem. Soc. 1980. V. 102. P. 7945-7947.
90. Мицнер Б.И., Варга М., Швеиц В.И., Хитрина Л.В., Драчев Л.А., Скулачев В.П., Данишина С.В., Чекулаева Л.Н. // Биол. мембраны. 1988. Т. 5. С. 135-137.
91. van der Steen R., Biesheuvel P.L., Mathies R.A., Lugtenburg J. // J. Am. Chem. Soc. 1986. V. 108. P. 6410-6411.
92. van der Steen R., Biesheuvel P.L., Erkelens C., Mathies R.A., Lugtenburg J. // Recl. Trav. Chim. Pays-Bas. 1989. V. 108. P. 83-93.
93. Copie V., McDermott A.E., Beshah K., Williams J.C., Spijker-Assink M., Gebhard R., Lugtenburg J., Herzfeld J., Griffin R.G. // Biochemistry. 1994. V. 33. P. 3280-3286.
94. Chernavskii D.S., Chizhov I.V., Lozier R.H., Murina T.M., Prokhorov A.M., Zubov B.V. // Photochem. Photobiol. 1989. V. 49. P. 649-653.
95. Hofrichter J., Henry E.R., Lozier R.H. // Biophys. J. 1989. V. 56. P. 693-706.
96. Govindjee R., Balashov S.P., Ebrey T.G. // Biophys. J. 1990. V. 58. P. 597-608.
97. Lany J. // Biochim. Biophys. Acta. 1993. V. 1183. P. 241-261.
98. Каулен А.Д., Драчев Л.А., Скулачев В.П., Хитрина Л.В., Зорина В.В. // Гр. Междунар. конф. по ретинальсодержащим белкам / Ред. Ю.А. Овчинников. М.: Наука, 1989. С. 298-302.
99. Зорина В.В., Каулен А.Д. // Биол. мембраны. 1988. Т. 5. С. 910-919.
100. Зорина В.В., Каулен А.Д. // Биол. мембраны. 1988. Т. 5. С. 1135-1144.
101. Drachev L.A., Kaulen A.D., Skulachev V.P., Zorina V.V. // FEBS Lett. 1988. V. 239. P. 1-4.
102. Kaulen A.D., Drachev L.A., Zorina V.V. // Biochim. Biophys. Acta. 1990. V. 1018. P. 103-113.
103. Drachev L.A., Dracheva S.V., Kaulen A.D. // FEBS Lett. 1993. V. 332. P. 67-70.
104. Khitrina L.V., Drachev L.A., Eremin S.V., Kaulen A.D., Khodonov A.A. // Structure and Functions of Retinal Proteins. V. 221 / Ed. J.L. Rigaud. Colloque INSERM: John Libbey Eurotext Ltd., 1992. P. 167-170.
105. Steinberg G., Sheves M., Bressler S., Ottolenghi M. // Biochemistry. 1994. V. 33. P. 12439-12450.
106. Ohno K., Takeuchi Y., Yoshida M. // Biochim. Biophys. Acta. 1977. V. 462. P. 575-582.
107. Овчинников Ю.А., Шкроб А.М., Родионов А.В. // Биоорган. химия. 1978. Т. 4. С. 354-359.
108. Mao B., Govindjee R., Ebrey T.G., Arnaboldi M., Balogh-Nair V., Nakanishi K., Crouch R. // Biochemistry. 1981. V. 20. P. 428-435.
109. Gartner W., Oesterheld D., Seifer-Schiller E., Towner P., Hopf H., Bohm I. // J. Am. Chem. Soc. 1983. V. 106. P. 5654-5659.
110. Balogh-Nair V., Nakanishi K. // Meth. Enzymol. 1982. V. 88. Part I. P. 496-506.
111. Шкроб А.М., Родионов А.В., Овчинников Ю.А. // Биоорган. химия. 1981. Т. 7. С. 1169-1194.
112. Towner P., Gaertner W., Walckhoff B., Oesterheld D., Hopf H. // Eur. J. Biochem. 1981. V. 117. P. 353-359.
113. Sheves M., Friedman N., Albeck A., Ottolenghi M. // Biochemistry. 1985. V. 24. P. 1260-1265.
114. Ottolenghi M., Sheves M. // J. Membrane Biol. 1989. V. 112. С. 193-212.
115. Akhtor M., Jallo L., Johnson A.H. // J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1982. P. 44-46.
116. Iwasa T., Takao M., Tsujimoto K., Tokunaga F. // Biochemistry. 1988. V. 27. P. 2416-2419.
117. Asato A.E., Li X.-Y., Mead D., Patterson G.M.L., Liu R.S.H. // J. Am. Chem. Soc. 1990. V. 112. P. 7398-7399.
118. Rao V.J., Derguini F., Nakanishi K., Tagushi T., Hosoda A., Hanzava Y., Kobayashi Y., Pande S.M., Callender R.H. // J. Am. Chem. Soc. 1986. V. 108. P. 6077-6078.

## Retinal Analogs and Their Role in Studies of Bacteriorhodopsin

A. A. Khodonov\*, S. V. Eremin\*, J. L. Lokshin\*, V. I. Shvets\*,  
O. V. Demina\*\*, L. V. Khitrina\*\*, and A. D. Kaulen\*\*

\*Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

\*\*Belozerskii Institute of Physicochemical Biology, Moscow State University, Moscow, Russia

**Abstract**—Methods of synthesis of retinal analogs devised by the authors, data on the interaction of these analogs with bacteriorhodopsin, and properties of the pigments obtained were reviewed. These data made it possible to study the selectivity of bacteriorhodopsin relative to chromophores.

**Key words:** retinoids, retinal, bacteriorhodopsin, analogs, photocycle.