



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 547.466.1 + 547.963.4.07

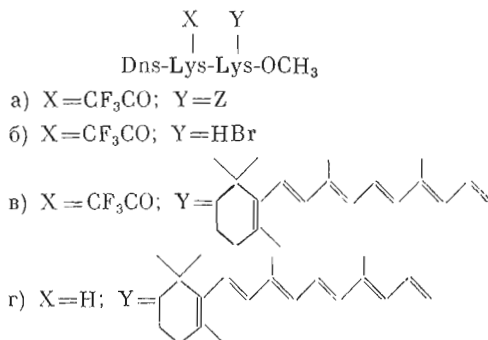
**ПОДХОД К НАПРАВЛЕННОМУ ВВЕДЕНИЮ РЕТИНАЛЯ
В Lys-Lys-ФРАГМЕНТ «ХРОМОФОРНОГО ЦЕНТРА»
БАКТЕРИОРОДОПСИНА***Мицнер Б. И., Карнаухова Е. Н., Звонкова Е. Н.,
Евстигнеева Р. П.**Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова*

Успешные работы по установлению первичной структуры бактериородопсина [1, 2] позволяют поставить вопрос о синтезе отдельных фрагментов этого белка или всей молекулы в целом. Как известно, бактериородопсин представляет собой хромопротеид, в котором остаток ретиналя присоединен посредством альдиминной связи к ϵ -аминогруппе лизина, находящегося, вероятно, в положении 41 [3]. Специфической проблемой, которая возникает при синтезе фрагментов бактериородопсина, включающих в свой состав «хромофорный центр», является выбор защитных групп для избирательного блокирования других остатков лизина. Однако при синтезе достаточно длинных пептидов необходимость в такой защите может отпасть, поскольку не исключено, что связывание ретиналя будет происходить направленно. Тем не менее при синтезе коротких фрагментов такая защита безусловно необходима.

С нашей точки зрения, общая стратегия синтеза лизинсодержащих ретинилиденпептидов должна заключаться в следующем: 1) создание заданной аминокислотной последовательности; 2) деблокирование всех функциональных аминокислот, кроме N-концевой и остатков лизина, не участвующих в формировании альдиминной связи; 3) введение остатка ретиналя; 4) удаление защитных групп с остальных аминокислот. Таким образом, используемая защита ϵ -аминофункций должна быть устойчива в ходе пептидного синтеза и деблокирования защитных групп боковых радикалов других аминокислот, а ее удаление не должно сопровождаться разрушением лабильной ретинилиденовой группировки.

Как известно, альдиминная связь ретиналя неустойчива к действию целого ряда нуклеофильных агентов, к восстанавливающей среде, окислителям, ультрафиолетовому свету и т. д. Однако проведенные нами специальные исследования показали, что эта связь характеризуется повышенной устойчивостью в водно-органических средах при высоких значениях рН. Аналогичные наблюдения имели место при изучении щелочной денатурации бактериородопсина [4]. Таким образом, для решения поставленной задачи следовало было выбрать такие защитные группировки, деблокирование которых проводят в щелочной среде. Согласно литературным данным, этим условиям удовлетворяют трифторацетильная (CF_3CO) и метилсульфонилэтоксикарбонильная группы. На данном этапе исследования, учитывая большую доступность CF_3CO -производных, мы остано-

вили свой выбор на этой защите. Для экспериментальной проверки ее применимости нами синтезирован модельный пептид, содержащий в своем составе два соседних остатка лизина (ситуация, имеющая место в «хромофорном центре» бактериородопсина), и на его основе получено соответствующее ретинилиденное (*all-E*) производное (Iг)



Выбор дансильной (Dns) группы для защиты α-аминного азота определялся следующими соображениями: 1) Dns-группа играет роль метки для N-концевого лизина, что позволяет однозначно, при наличии заранее синтезированных свидетелей, использовать данные гидролиза для доказательства строения синтезируемых соединений, 2) ее применение значительно облегчает хроматографический контроль за протеканием отдельных стадий синтеза и чистотой выделяемых соединений. Удаление бензилоксикарбонильной (Z) группы осуществляли действием HBr/CH₃COOH в стандартных условиях. Далее бромгидрат (Iб, т. пл. 175—177°) после растворения в сухом метаноле и добавления 2 экв. метилата натрия вводили в конденсацию в темноте в атмосфере аргона с избытком ретиналя. Полученный таким образом альдимин (Iв) был выделен в кристаллическом состоянии в виде хлоргидрата (т. пл. 162—164°, λ_{макс} 450 нм, ε 35 000) после кристаллизации из смеси метанол — эфир (1 : 4); при этом весь избыток ретиналя оставался в маточнике. Удаление CF₃CO-группы осуществляли действием 2 н. NaOH в 85% метаноле за 3 мин при контроле с помощью ТСХ (R_(Iв) 0,70, R_(Iг) 0,15 на силуфол в системе CHCl₃ — CH₃OH — CF₃COOH, 10 : 1 : 0,5). Строение ретинилиденпептида (Iг) подтверждалось следующими превращениями: в результате дансильрования и последующего кислотного гидролиза в гидролизате обнаружены лишь Dns-Lys(Dns) и Lys, что четко свидетельствует об однозначности протекания реакции снятия CF₃CO-группы и отсутствии миграции остатка ретиналя с одного лизина на другой. В свою очередь, сохранение ретинилиденной группировки подтверждалось специфическими реакциями на альдиминную группу (гидролизом, взаимодействием с NH₂OH, восстановлением NaBH₄), а также спектрально по характерному батохромному сдвигу, наблюдаемому при протонировании ретинилиденпептида (Iг) (360 → 450 нм, ε 42 100 и 38 000 соответственно).

Таким образом, проведенное нами исследование позволяет сделать вывод о перспективности применения CF₃CO-защитной группы в ходе синтеза лизинсодержащих ретинилиденпептидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ovchinnikov Yu. A., Abdulaev N. G., Feigina M. Yu., Kiselev A. V., Lobanov N. A. (1977) FEBS Lett., 84, 1—4.
2. Овчинников Ю. А., Абдулаев Н. Г., Фейгина М. Ю., Киселев А. В., Лобанов Н. А., Назимов И. В. (1978) Биоорганическая химия, 4, 979—984.
3. Bridgen J., Walker I. D. (1976) Biochemistry, 15, 792—798.
4. Шкроб А. М., Родионов А. В. (1978) Биоорганическая химия, 4, 360—368.

Поступило в редакцию
18.VII.1978

AN APPROACH TO SPECIFIC INTRODUCTION OF RETINAL INTO Lys-Lys
FRAGMENT OF BACTERIORHODOPSIN CHROMOPHORIC CENTER 1

MITSNER B. I., KARNAUKHOVA E. N., ZVONKOVA E. N.,
EVSTIGNEEVA R. P.

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

On the example of Dns-Lys-Lys-(*all-E*-Ret)-OCH₃ preparation trifluoroacetyl group has been shown to be suitable for N^ε-aminofunction protection in the synthesis of lysine-containing [retinylidenepeptides. Conditions for specific deblocking of this group in the presence of retinylidene moiety] have been worked up.
