

УДК 543.422+547.388/963.4

БИОФИЗИКА

В. Л. ХРИСТОФОРОВ, Е. Н. ЗВОНКОВА, Р. П. ЕВСТИГНЕЕВА

К ВОПРОСУ О ПРИРОДЕ СВЯЗИ ХРОМОФОРА С БЕЛКОМ В РОДОПСИНЕ. ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ N-ALL-ТРАНС-РЕТИНИЛИДЕНБУТИЛАМИНА

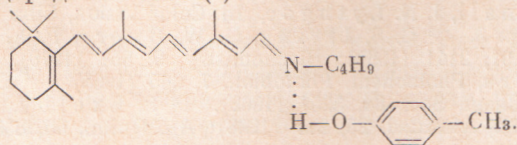
(Представлено академиком Ю. А. Овчинниковым 28 XII 1970)

Известен ряд природных светочувствительных пигментов липопротеидной структуры, содержащих в качестве хромофорной группы ретиналь — альдегид витамина А, которые обладают характеристическими спектральными свойствами в видимой области спектра ($\lambda_{\max}$ от 430 до 562 мк⁽¹⁾). Наиболее подробно изученным среди них является родопсин с полосой поглощения 500 мк. Несмотря на существенные разногласия по вопросу о природе группировки, участвующей в связывании хромофора в родопсине, принято считать, что альдегид фиксируется липопротеидом с помощью альдиминной связи. Следовательно, спектральные свойства пигмента должны быть объяснены в рамках этих представлений. Сами альдимины ретиналя поглощают при 360—370 мк. Наиболее общепринятая трактовка при объяснении «красного сдвига» в спектрах зрительных пигментов заключается в допущении существования альдимина в протонированной форме, спектр которой сильно зависит от поляризуемости окружающей среды ⁽²⁾ и конформации хромофора ⁽³⁾.

С другой стороны, давно известно, что в молекулах с π -сопряжением длинноволновый сдвиг полос в электронных спектрах поглощения происходит при наличии водородной связи. Поэтому естественно поставить вопрос о возможной роли фенольного гидроксила остатка тирозина или другой протонодонорной группировки в белке при связывании хромофора в родопсине.

Прежде всего, выдвигая такое предположение, необходимо было проверить его на простой модели. С этой целью нами был приготовлен all-транс-ретинилиденбутиламин по известному методу ⁽³⁾. После кристаллизации из пентана вещество имело т. пл. 55—57°. Чистота вещества подтверждена элементарным анализом. У.-ф. спектр: $\lambda_{\max}$ 365 мк, ϵ 45 000 (четырёххлористый углерод). Его хлоргидрат имел $\lambda_{\max}$ 442 мк в том же растворителе. Замена растворителя сильно сказывалась на положении этой полосы, вызывая значительное длинноволновое смещение при переходе к дихлорэтану и орто-дихлорбензолу в соответствии с данными Ирвинга ⁽²⁾ (табл. 1). Далее нами были изучены и.-к. и у.-ф. спектры N-all-транс-ретинилиденбутиламина в присутствии *n*-крезола (pK 10,2, т. пл. 35°, n_D 1,5356).

Анализ и.-к. спектров, снятых в разбавленных растворах CCl_4 , показывает, что в присутствии *n*-крезола не образуется протонированная форма альдимина (нет полосы 1655 см⁻¹), и наблюдается широкая полоса, расположенная в районе 2300—3400 см⁻¹, которая может быть отнесена к межмолекулярной водородной связи ⁽⁴⁾:



Измерение электронных спектров N-all-транс-ретинилиденбутиламина в присутствии *n*-крезола в CCl_4 показало, что в этих условиях наблюдается исчезновение максимума поглощения альдимины (365 мμ) и возникает две новых полосы поглощения 386 и 465 мμ (рис. 1). С ростом концентрации *n*-крезола (от 0,05 *M* до 0,5 *M*) максимум 386 мμ полностью исчезает и возрастает интенсивность полосы при 465 мμ. Наличие нескольких форм с разными спектральными свойствами является характерной чертой фототропных жирно-ароматических альдиминов (⁵). В нашем случае положение полосы поглощения при 465 мμ оказалось очень чувствительно к природе растворителя, аналогично эффекту, наблюдавшемуся для хлоргидрата N-all-транс-ретинилиденбутиламина (табл. 1).

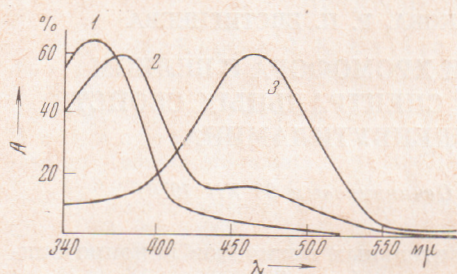


Рис. 1. Электронные спектры N-all-транс-ретинилиденбутиламина (CCl_4 , $1,5 \cdot 10^{-5}$ *M*). Спектры сняты на спектрофотометре марки «Hitachi» EPS-3T. 1 — в присутствии *n*-крезола; 2 — в присутствии 0,05 *M* *n*-крезола; 3 — в присутствии 0,5 *M* *n*-крезола

гласуется с тем, что как известно, сульфгидрильная группа имеет очень слабые протонодонорные свойства по сравнению с фенольным гидроксилом.

На основе изложенных данных можно сделать вывод о том, что не только протонирование, но и возможность образования водородной связи с фенольным гидроксилом тирозина должна быть учтена при объяснении

Обнаруженное явление — изменение электронных спектров N-ретинилиденбутиламина в присутствии *n*-крезола — не удалось наблюдать при замене *n*-крезола на *n*-децилмеркаптан (рК 10), хотя концентрации последнего варьировались в CCl_4 в пределах от 0 до 100% при 20°. Это со-

Таблица 1

Влияние природы растворителя на спектральные свойства

Растворитель	Хлоргидрат N-ретинилиден- бутиламина (λ, мμ)	N-ретинилиденбутиламин в присутствии 0,5 <i>M</i> <i>n</i> -крезола	
		λ, мμ	ε
Гексан	Нерастворим	460	41 500
CCl_4	442	465	41 000
Дихлорэтан	454	479	40 500
о-Дихлорбензол	512	501	36 000

спектральных свойств родопсина, тем более что Трсис (⁶) получил очень хорошее соответствие расчетных величин с наблюдаемыми у зрительных пигментов спектральными свойствами, когда провел квантовомеханический расчет, исходя из предположения, что существует водородная связь между атомом азота шиффова основания и некоторой неспецифической электроотрицательной группой родопсина.

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

Поступило
8 XII 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. J. A. Dartnall, J. N. Lythgoe, In. Color Vision, Ciba Found Symp., Churchill, London, 1965, p. 3. ² C. S. Irving, G. W. Byers, P. A. Leermakers, J. Am. Chem. Soc., **91**, 2141 (1969); Biochemistry, **9**, 858 (1970). ³ C. S. Irving, P. A. Leermakers, Photochem. Photobiol., **7**, 665 (1968). ⁴ D. Heinert, A. E. Martell, J. Am. Chem. Soc., **84**, 3257 (1962). ⁵ R. Exelby, Chem. Rev., **65**, 247 (1965). ⁶ M. Trsis, Afinidad, **25**, 217 (1968); An. Quim., **65**, 833 (1969).