

Взаємодія стероїдних глікозидів з амінокислотами: дослідження методом плазменно-десорбційної мас-спектрометрії

В. В. Пилипенко, С. О. Аксьонов, О. М. Калінкевич, Л. Ф. Суходуб

Інститут прикладної фізики НАН України
Вул. Петропавлівська, 58, Суми, 40030, Україна

Методом плазменно-десорбційної мас-спектрометрії з іонізацією уламками поділу Cf-252 досліджено взаємодію стероїдних глікозидів біозиду неотігогеніну та тріозиду неотігогеніну з низкою амінокислот. Встановлено, що ці речовини здатні вступати у взаємодію з деякими амінокислотами з утворенням нековалентноз'язаних асоціатів.

Вступ. Стероїдні глікозиди (СГ) — це речовини стероїдної природи рослинного походження, котрі мають виражений широкий спектр фізіологічної дії як на рослинний, так і на тваринний організми. Дослідження біоактивності СГ останніх років вказують на наявність у них мембранотропної [1—5], протизапальної [1—6], протипухлинної [1—5], антиоксидантної [1—5], протигрибкової [1—5, 7] та алелопатичної активності [1, 5, 8—11]. Є відомості щодо антивірусної активності СГ на рівні інтерферону [12], а також контрацептичної здатності деяких з них стосовно тваринного організму [1]. Значну зацікавленість викликає можливість використання нативних СГ та їхніх похідних як гормональних препаратів або ж синтезу останніх на їхній основі. Механізми промислового синтезу прогестерону з діосгеніну було запропоновано ще в середині ХХ століття Маркером [3, 4, 13, 14]. Цей факт значно сприяв розвиткові пошуків нових джерел СГ і генінів, а також зростанню уваги до вивчення структури і біоактивності СГ. Останнє дозволило створити на основі СГ ряд фармакологічних препаратів, які з успіхом використовуються у терапії різних захворювань.

Насамперед слід відзначити кардіологічні препарати, такі як серцеві глікозиди [15] і препарати

для профілактики і лікування початкових стадій атеросклерозу [16, 17]. В останні роки велику зацікавленість викликає протипухлинна активність СГ, деякі автори відмічають високу інгібуючу здатність СГ по відношенню до проліферуючих клітинних систем. Їхню дію часто пояснюють, виходячи з мембранотропної активності СГ, але точні механізми ще не відомі і знаходяться на початковій стадії вивчення [1, 5, 9]. Це стосується також механізмів інших видів біоактивності СГ, а також можливостей їхньої взаємодії з різними біомолекулами і впливу цієї взаємодії на прояв терапевтичної дії СГ.

З вищенаведеного випливає, що інформація про реакційну здатність СГ стосовно біологічно важливих молекул має суттєве значення для виробників нових фармакологічних препаратів, оскільки може розкрити можливі механізми дії СГ, а також створити засоби для запобігання небажаним побічним ефектам. Одним із засобів, який з успіхом використовується для визначення, підтвердження та уточнення хімічної структури СГ і вивчення їхньої взаємодії з різноманітними біомолекулами, є мас-спектрометрія, особливо м'якоіонізаційні методи [8, 18—22]. Результати, отримані з її використанням, дозволяють якісно і кількісно поповнити обсяг інформації про хімічну структуру СГ і розширити уявлення про реакційну здатність даного класу речовин у сумішах з різними біомо-

лекулами. В даній роботі для вивчення взаємодії СГ з амінокислотами було використано метод плазменно-десорбційної мас-спектрометрії з іонізацією уламками поділу Cf-252 (ПДМС), який відноситься до розряду м'якоіонізаційних методів і ефективно застосовується при вивченні взаємодії різноманітних фармпрепаратів з біомолекулами [23]. Загалом представлена робота являє собою продовження досліджень з вивчення процесів взаємодії фармакологічних препаратів з біомолекулами, які здійснюються в лабораторії біофізики ІПФ НАНУ під керівництвом Л. Ф. Суходуба.

Матеріали і методи. В ході досліджень нами було використано очищені препарати СГ біозиду неотігогеніну (БН) і тріозиду неотігогеніну (ТН), люб'язно надані з лабораторії проф. П. К. Кінті (Інститут генетики Академії наук республіки Молдови), екстраговані з насіння томатів, а також амінокислоти аланін, аргінін, аспарагінова кислота, валін, гліцин, глутамін, глутамінова кислота, гістидин, гідроксипролін, ізoleyцин, лейцин, лізин, метіонін, серин, тирозин, треонін, триптофан, фенілаланін, цистеїн виробництва фірми «Sigma» (США).

Для дослідів готували модельні суміші глікозидів з певними амінокислотами у молярному співвідношенні 1:1. Далі суміш розчиняли у дистильованій воді з концентрацією 1 мкг/мл, витримували протягом 1 год при температурі 25 °С і наносили на позолочений диск у кількості 10—20 мкл, щоб розчин утворив пляму рівномірної товщини загальною площею не більше ніж 1—1,5 см². Потім диск просушували у потоці теплого повітря до утворення на ньому сухого осаду і аналізували за допомогою часопротітного мас-спектрометра з іонізацією уламками поділу Cf-252 МСБХ, розробленого для біохімічних досліджень і виробленого АО SELMI (Суми, Україна). Прискорююча напруга дорівнювала +15 та -15 кВ, роздільна здатність за масами складала близько 250 на рівні 0,1 висоти піка [24, 25].

Результати та обговорення. Молекула СГ складається зі стероїдної частини, яка має назву аглікону, або геніну, та приєднаного до неї вуглеводного ланцюга [2—4, 13, 14]. Кількість моноцукрових залишків у ньому може бути від 1 до 7, найчастіше до складу вуглеводної частки молекули СГ входять поширені у природі моноцукри: глюкоза, галактоза, рамноза, ксилоза, але інколи зустрічаються і рідкісні [2, 3, 13, 14]. Стероїдна частина молекули СГ може бути представлена геніном ряду спіростану чи фуростану, відповідно до цього СГ класифікують як спіростанові та фуростанові [2, 3, 13, 14]. Молекули БН та ТН іден-

тичні за своєю агліконовою компонентою, яка являє собою генін ряду спіростану — неотігогенін, або 25S-5a-spirostan-3b-ol. Але вони дещо відрізняються за складом вуглеводного ланцюга, котрий у БН складається з галактози і глюкози, а ТН має ще одну додаткову молекулу глюкози. Вуглеводна частина приєднується до аглікону по місцю 3-ОН зв'язку [2]. Структури молекул БН та ТН наведено на рис. 1.

Спочатку для перевірки чистоти даних препаратів і встановлення шляхів фрагментації молекул СГ нами було досліджено індивідуальні СГ. У мас-спектрах БН та ТН спостерігалися інтенсивні піки в області мас, що відповідають молекулярній масі глікозидів ($M_r = 740$, $M_r = 902$), які являли собою квазімолекулярні іони (КМІ) глікозидів з протоном чи іонами натрію або калію. Найвища інтенсивність відповідала утворенню КМІ глікозидів з іоном натрію. Така інтенсивність піків, які відповідають утворенню КМІ глікозидів з іоном натрію чи калію, скоріше за все, пов'язана з наявністю деякої кількості натрію чи калію у зразках глікозидів, що цілком імовірно для препаратів рослинного походження, якщо вони не були ретельно знесолені. Щодо утворення КМІ глікозидів з протоном, то це цілком очікуваний процес, який відбувається під час іонізації зразка і є типовим для даного типу іонізації [21, 22]. Для мас-спектрометричного дослідження СГ характерним є також певний тип фрагментації молекули глікозиду, який являє собою або розрив по місцю з'єднання аглікону і вуглеводного ланцюга з відо-

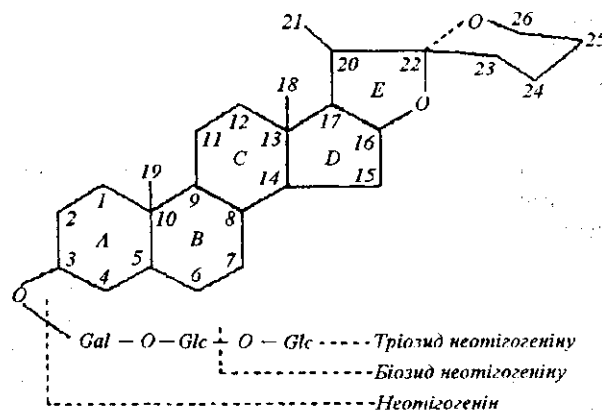


Рис. 1. Хімічна структура стероїдних глікозидів ряду спіростану. біозиду неотігогеніну та тріозиду неотігогеніну

кремленням геніну від глікозиду, або ж відщеплення однієї чи декількох молекул вуглеводів, внаслідок чого вуглеводна частина СГ стає дещо коротшою. У мас-спектрах СГ це проявляється в наявності піків в області молекулярної маси аглікону глікозиду та піків в області мас, що відповідають СГ з меншим вуглеводним ланцюгом у порівнянні зі зразком. Крім цього, для мас-спектрів СГ у деяких випадках характерною також є наявність піків, які відносяться до фрагментів агліконів. Частіше за все ці піки відповідають утворенню іона аглікону з відщепленою від нього гідроксигрупою чи молекулою води або протону. Дані про особливість фрагментації СГ мають неабияке значення для вивчення чи підтвердження структури молекули СГ засобами мас-спектрометричного дослідження, оскільки дозволяють дослідити як структуру геніну, так і склад вуглеводного компонента молекули СГ [8, 18—20]. У мас-спектрах БН і ТН ми відмітили наявність інтенсивних піків у районі молекулярної маси аглікону БН та ТН неотіогеніну ($M_r = 416$) і його фрагмента, який відповідає іону такої структури: $[(Agl-OH) + H]^+$ ($m/z = 400$). Тобто в даному випадку фрагментація молекули СГ відбувалася, як і передбачалося, шляхом відокремлення геніну з відщепленням гідроксигрупи від останнього. Таким чином, мас-спектри БН і ТН повністю підтвердили дані, отримані в ході мас-спектрометричного вивчення інших схожих з ними за структурою СГ [18—20]. У мас-спектрах БН та ТН присутні також низькі за інтенсивністю піки в районі мас, що відповідають утворенню сполуки між двома молекулами СГ ($m/z = 1505$, $m/z = 1804$). Основні результати аналізу мас-спектрів БН та ТН представлено у табл. 1.

У мас-спектрах індивідуальних амінокислот спостерігалися піки значної інтенсивності в області молекулярної маси кожної амінокислоти. У більшості випадків ці піки відповідали також утворенню КМІ амінокислоти з протоном. Крім цього, в усіх мас-спектрах амінокислот відмічено інтенсивні піки в області мас, що відповідають утворенню нековалентноз'язаних асоціатів двох молекул амінокислоти. У мас-спектрах деяких амінокислот були присутні також піки нековалентноз'язаних асоціатів більшої кількості молекул амінокислот. Так, мас-спектри аланіну, валіну, гліцину і лейцину продемонстрували наявність піків, що відповідають утворенню нековалентноз'язаних асоціатів трьох молекул амінокислот, а у мас-спектрі лейцину був присутній інтенсивний пік асоціату чотирьох молекул лейцину.

Аналіз мас-спектрів сумішей СГ з амінокислотами показав, що в них спостерігаються, по-пер-

Таблиця 1
Основні піки плазменно-десорбційних мас-спектрів стероїдних глікозидів

| Стероїдний глікозид | m/z піка | Відповідний іон |
|----------------------|------------|--------------------|
| Біозид неотіогеніну | 742 | $[M + H]^+$ |
| | 765 | $[M + Na]^+$ |
| | 782 | $[M + K]^+$ |
| | 400 | $[(Agl-OH) + H]^+$ |
| | 417 | $[Agl + H]^+$ |
| | 1505 | $[2M + Na]^+$ |
| Тріозид неотіогеніну | 903 | $[M + H]^+$ |
| | 926 | $[M + Na]^+$ |
| | 942 | $[M + K]^+$ |
| | 400 | $[(Agl-OH) + H]^+$ |
| | 1804 | $[2M]$ |

П р и м і т к а. Помилка вимірювання $m/z \pm 1$ а. о. м.

ше, інтенсивні піки, характерні для індивідуальних компонентів сумішей. і, по-друге, інтенсивні піки гетерокластерних сполук СГ з амінокислотами за типом $[СГ + \text{амінокислота} + H]^+$ або $[СГ + \text{амінокислота} + K]^+$. Основні результати аналізу представлені в табл. 2. Як видно з даних цієї таблиці, БН проявляє здатність до утворення гетерокластерних асоціатів майже з усіма дослідженими амінокислотами. Виключення складають аргінін, гістидин, метіонін, триптофан і лізин. У мас-спектрах сумішей БН з цими амінокислотами нам не вдалося виявити піків в області мас, що відповідають утворенню гетерокластерних асоціатів БН з ними. Отже, ми не впевнені в тому, що БН не здатний вступати у взаємодію з даними амінокислотами, але можна стверджувати, що його комплексотвірна здатність по відношенню до них дещо менша, ніж стосовно інших амінокислот. Слід також зазначити, що найспроможнішими утворювати гетерокластерні сполуки з БН виявилися такі амінокислоти: аланін, аспарагінова кислота, валін, гліцин, глутамін, глутамінова кислота, серин, фенілаланін, цистеїн. Отже, за мас-спектрометричними даними, БН проявляє більшу здатність до взаємодії з амінокислотами, які при фізіологічному значенні рН мають полярні заряджені негативно та полярні незаряджені радикали, і демонструє нижчу здат-

Таблиця 2

Взаємодія стероїдних глікозидів з амінокислотами за даними плазменно-десорбційної мас-спектрометрії

| Амінокислота (М) | Стероїдні глікозиди | | | |
|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| | Біозид неопітогеніну | | Тріозид неопітогеніну | |
| | [M + H] ⁺ | [M + K] ⁺ | [M + H] ⁺ | [M + K] ⁺ |
| Аланін | 831** | 870** | 993*** | — |
| Аргінін | — | — | — | — |
| Аспарагінова кислота | 875** | 913*** | — | 1074*** |
| Валін | 859*** | 898*** | 1020*** | — |
| Гліцин | 818*** | — | 978*** | 1017*** |
| Глутамін | [888] ⁻ ** | 927*** | 1050*** | 1089*** |
| Глутамінова кислота | 889*** | 928*** | 1051*** | — |
| Гістидин | — | — | — | — |
| Ізолейцин | 873** | 911** | 1033** | — |
| Лейцин | 873** | 911** | 1033** | — |
| Лізин | — | — | — | — |
| Метіонін | — | — | — | — |
| Гідроксипролін | 874** | 913*** | 1036*** | 1073* |
| Серин | 849*** | 885** | 1006*** | 1044*** |
| Тирозин | 924* | — | 1084* | — |
| Треонін | 860** | 899** | 1022** | 1058* |
| Триптофан | — | — | — | — |
| Фенілаланін | 907* | 946** | 1067** | 1106** |
| Цистеїн | 862*** | 901** | 1024** | 1063** |

Примітка. Помилка вимірювання $m/z \pm 2$ а. о. м. Риска вказує на відсутність взаємодії між стероїдним глікозидом та відповідною амінокислотою. *Слабка взаємодія; **середня взаємодія; ***сильна взаємодія.

ність до взаємодії з неполярними амінокислотами. У мас-спектрах БН з полярними позитивно зарядженими амінокислотами утворення гетерокластерних сполук взагалі не було зафіксовано. Мас-спектр суміші БН з аспарагіновою кислотою представлений на рис. 2. Більша інтенсивність піків в області мас гетерокластерних сполук БН з амінокислотами характерна також для мас-спектрів деяких сумішей БН з амінокислотами, отриманих при негативній напрузі, у порівнянні з мас-спектрами сумішей того ж складу, але отриманих при позитивній напрузі.

Оскільки відомо, що із збільшенням вуглеводної частини молекули СГ його фармакологічна реакційна здатність підвищується [2—5, 13, 14], було досліджено можливість взаємодії ТН з даними

амінокислотами для порівняння з результатами аналізу взаємодії цих амінокислот з БН. Як уже вказувалося вище, агліконова складова БН та ТН однакова, і різниця між цими глікозидами полягає лише в наявності додаткової молекули глюкози у вуглецевому ланцюзі ТН. Звідси й різниця у взаємодії з амінокислотами БН та ТН може бути пояснена лише різницею в їхній вуглеводній частині. Результати аналізу мас-спектрів сумішей ТН з амінокислотами вказують на здатність до взаємодії ТН з амінокислотами з утворенням гетерокластерних сполук аналогічно БН. Однак для мас-спектрів сумішей ТН з амінокислотами характерною є більша вираженість та інтенсивність піків в області мас гетерокластерних сполук ТН з амінокислотами порівняно з цими ж піками для БН з

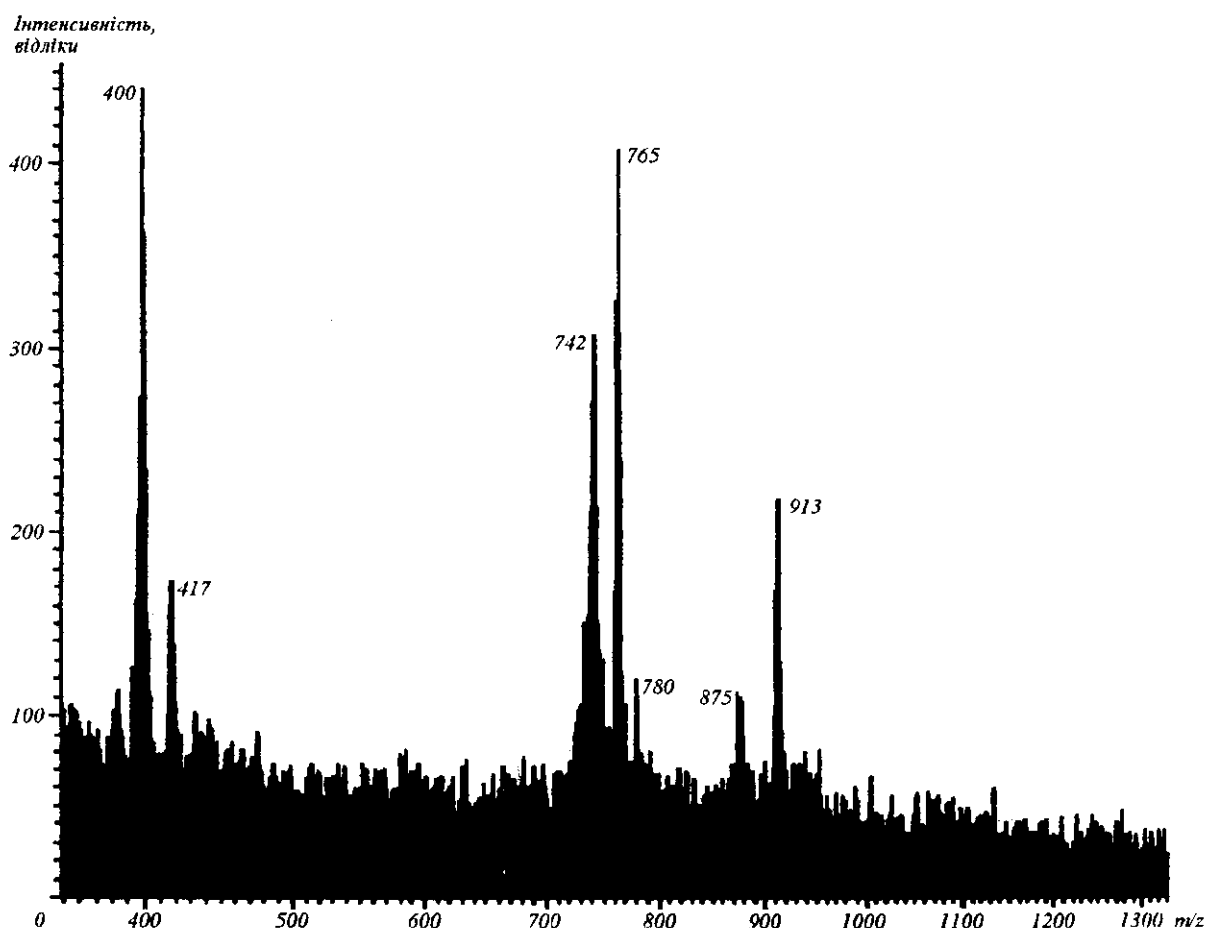


Рис. 2. Мас-спектр суміші біозиду неотіогеніну з аспарагіною кислотою. Спектр отриманий за умови позитивної прискорюючої напруги. Представлені на мас-спектрі піки відповідають таким іонам: $m/z = 400$ [(Agl-OH) + H]⁺, $m/z = 417$ [(Agl-H)]⁺, $m/z = 472$ [біозид неотіогеніну + H]⁺, $m/z = 765$ [біозид неотіогеніну+Na]⁺, $m/z = 780$ [біозид неотіогеніну + K]⁺, $m/z = 875$ [біозид неотіогеніну + аспарагінова кислота + H]⁺, $m/z = 913$ [біозид неотіогеніну + аспарагінова кислота + K]⁺

амінокислотами. Окрім цього, у більшості випадків у цих мас-спектрах відсутні піки типу [СГ + амінокислота + K]⁺. Найпривабливішими для ТН виявилися такі амінокислоти: аланін, аспарагінова кислота, глутамін, глутамінова кислота, гліцин, гідроксипролін, але й інші амінокислоти не набагато їм поступаються. Характерною є також відсутність чітко визначених піків гетерокластерних сполук ТН з такими амінокислотами, як аргінін, гістидин, метіонін, лізин і триптофан, хоча у їхніх мас-спектрах присутні досить виражені піки індивідуальних компонентів сумішей. Як і у випадку з БН, ми не можемо однозначно зробити висновок щодо нездат-

ності до взаємодії ТН з цими амінокислотами, але, виходячи з даних мас-спектрів, реакційна здатність ТН стосовно цих амінокислот напевно менша у порівнянні з іншими амінокислотами. Таким чином, як і в разі БН, аналіз мас-спектрометричних даних вказує на вищу здатність до взаємодії ТН з полярними негативно зарядженими та полярними незарядженими амінокислотами порівняно з неполярними амінокислотами і нездатність до взаємодії з полярними зарядженими позитивно амінокислотами. Слід також відзначити, що, як і для БН, для деяких мас-спектрів сумішей ТН з амінокислотами, отриманих за умови негативної прискорю-

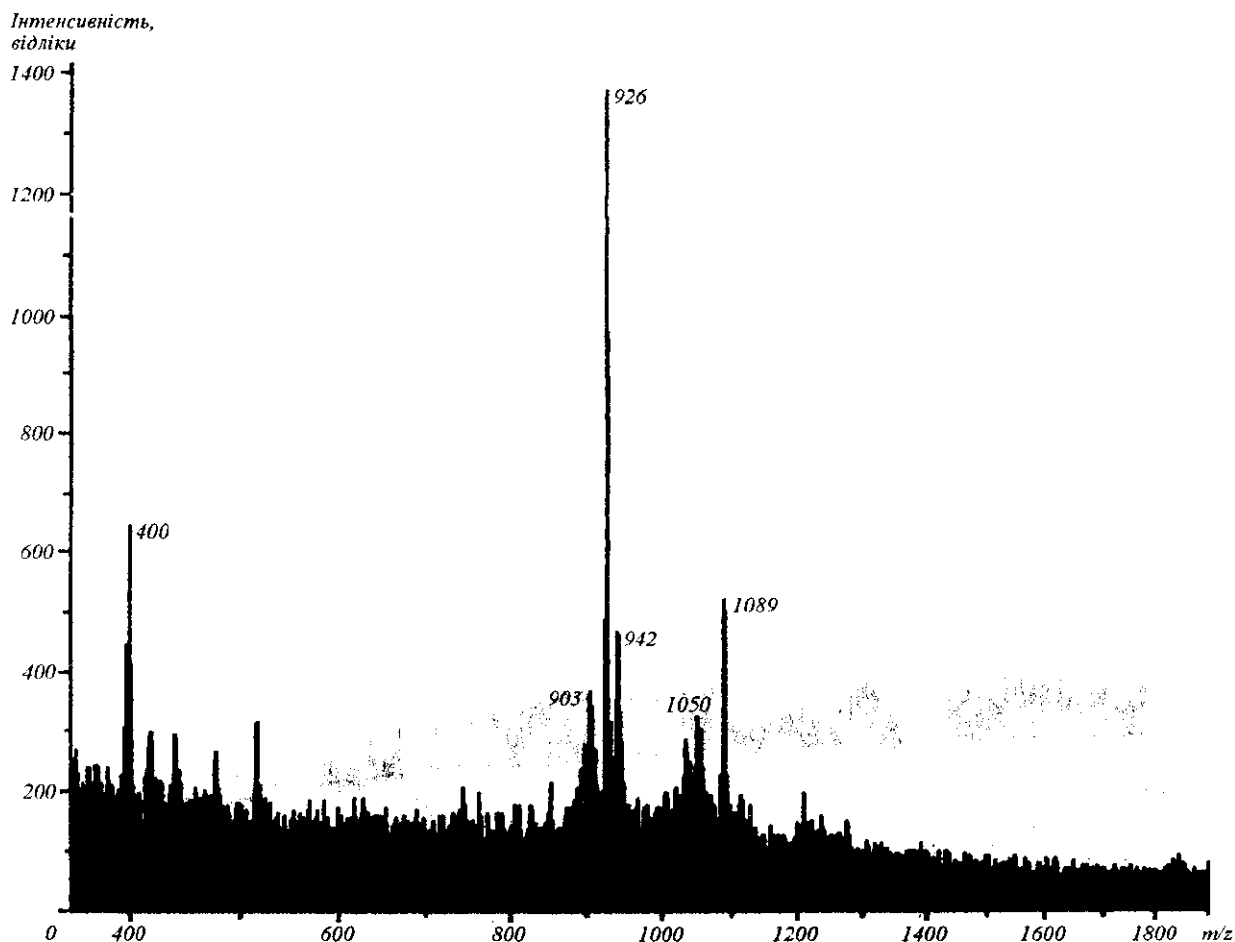


Рис. 3. Мас-спектр суміші тріозиду неотігогеніну з аспарагіною кислотою. Спектр отриманий за умови позитивної прискорюючої напруги. Представлені на мас-спектрі піки відповідають таким іонам: $m/z = 400$ [(Agl-OH) + H]⁺, $m/z = 903$ [тріозид неотігогеніну + H]⁺, $m/z = 926$ [тріозид неотігогеніну + Na]⁺, $m/z = 942$ [тріозид неотігогеніну + K]⁺, $m/z = 1050$ [тріозид неотігогеніну + глутамін + H]⁺, $m/z = 1089$ [тріозид неотігогеніну + глутамін + K]⁺

рюючої напруги, також характерна більша інтенсивність піків в області мас гетерокластерних сполук ТН з амінокислотами. Цю різницю легко помітити, порівнявши рис. 3 і 4, на котрих представлено мас-спектри суміші ТН з глутаміном, одержані за умови позитивної (рис. 3) і негативної (рис. 4) прискорюючої напруги. Основні результати аналізу також представлені в табл. 2.

Таким чином, результати дослідження модельних сумішей СГ з амінокислотами методом плазменно-десорбційної мас-спектрометрії достовірно вказують на можливість взаємодії СГ з амінокислотами з утворенням гетерокластерних сполук.

При цьому СГ з більшим вуглеводним ланцюгом, як виявилось, проявляють вищу здатність до взаємодії з амінокислотами. Найпривабливішими для СГ є полярні негативно заряджені та полярні незаряджені амінокислоти. Цей результат має суттєве значення для пояснення деяких аспектів біоактивності СГ. Так, в разі участі СГ у трансмембранному транспорті амінокислот вірогідним є збільшення в деякій мірі за рахунок СГ пулу вільних амінокислот у клітині, що може сприяти спрямованому синтезу деяких клітинних структур, а відтак впливати на її подальше функціонування. Взаємодія СГ з глікопластичними та кетопластичними

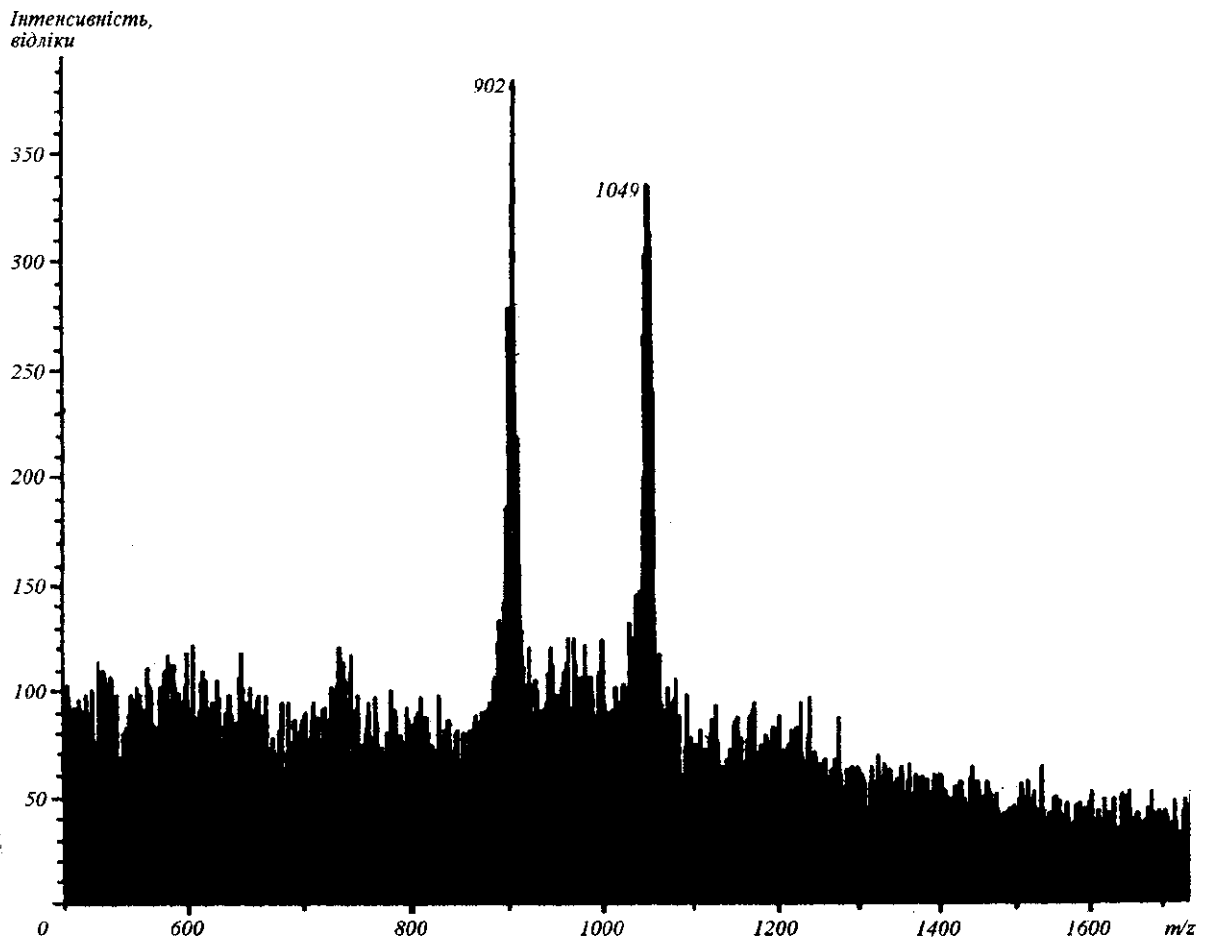


Рис. 4. Мас-спектр суміші тріозиду неотігогеніну з глутаміном. Спектр отриманий за умови позитивної прискорюючої напруги. Представлені на мас-спектрі піки відповідають таким іонам: $m/z = 902$ [тріозид неотігогеніну]⁺, $m/z = 1049$ [тріозид неотігогеніну + глутамін]⁺

амінокислотами може також підтверджувати вплив СГ на глюконеогенез та утворення коензиму А в клітині [26—28]. Цей результат має також певне значення для пояснення механізмів взаємодії СГ з білковими молекулами, зокрема, при транспортуванні СГ альбумінами крові або ж при взаємодії з білками мембрани. Отже, здатність СГ до взаємодії з амінокислотами вказує на можливі механізми фізіологічної дії цих препаратів. Темою майбутніх досліджень є з'ясування структури гетерокластерних сполук СГ та амінокислот.

Автори щиро вдячні проф. П. К. Кінті, С. А. Швецю і В. А. Бобейку (Інститут генетики Академії наук республіки Молдови) за люб'язно надані препарати стероїдних глікозидів.

В. В. Пилипенко, С. А. Аксенов, А. Н. Калинкевич,
Л. Ф. Суходуб

Взаимодействие стероидных гликозидов с аминокислотами: исследование методом плазменно-десорбционной масс-спектрометрии

Резюме

Стероидные гликозиды (СГ) — это вещества растительного происхождения с высоким уровнем физиологической активности. Некоторые из них проявляют антигрибковую, противоопухолевую, антивирусную и другие виды активности. В данной работе методом плазменно-десорбционной масс-спектрометрии с ионизацией осколками деления Cf-252 исследованы модельные смеси СГ биозида неотигогенина и триозида неотигогенина, выделенных из семян томатов, с некоторыми аминокислотами. Данные масс-спектров указывают на способность этих СГ вступать во взаимодействие с аминокислота-

ми с образованием нековалентно связанных ассоциатов по типу $[SG + \text{аминокислота} + H]^+$, $[SG + \text{аминокислота} + K]^+$.

V. V. Pilipenko, S. A. Aksyonov, A. N. Kalinkevich, L. F. Sukhodub

PDMS study of the steroid glycosides interaction with amino acids

Summary

Steroid glycosides (SG) are nontoxic substances of plant origin with high physiological activity. Some SG have fungicide, antitumor, antiviral and other effect. In this work Cf-252 Plasma Desorption Mass Spectrometry has been used to investigate model mixtures of SG Bioside neotigogenine and Trioside neotigogenine extracted from Tomato seeds with amino acids. From the mass-spectra obtained it is seen that these SG have an ability to form noncovalently bound associates with some amino acids like $[SG + \text{amino acid} + H]^+$ and $[SG + \text{amino acid} + K]^+$.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kintia P. K. Chemistry and biological activity of steroidal saponins from Moldavian plants. Saponins used in traditional and modern medicine // *Adv. Exp. Med. and Biol.*—1996.—404.—P. 309—334.
2. Кинтя П. К., Лазуревский Г. В., Балашова Н. Н., Балашова И. Т., Суружи А. И., Лях В. А. Структура и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуростана.—Кишинев: Штиинца, 1987.—240 с.
3. Камерницкий А. В., Абубакиров Н. К., Горовиц М. Б. Химия спиростанолов.—М.: Наука, 1986.—176 с.
4. Тенцова А. И., Лебедева-Косова Т. А. Стероидные гликозиды как биологически активные вещества // *Фармация.*—1985.—№ 3.—С. 81—86.
5. Ахов Л. С., Головкин Э. А. Биологическая активность сапонинов // *Физиология и биохимия культ. растений.*—1998.—30, № 2.—С. 112—123.
6. Сыров В. Н., Кравец С. Д., Хушбактова З. А., Набиев А. Н., Воллернер Ю. С., Горовиц М. Б. Исследование стероидных генинов и гликозидов в качестве противовоспалительных средств // *Хим.-фарм. журн.*—1992.—№ 5.—С. 71—75.
7. Jurzysta M., Waller G. R. Antifungal and hemolytic activity of aerial parts of alfalfa (*Medicago*) species in relation to saponin composition. Saponins used in traditional and modern medicine // *Adv. Exp. Med. and Biol.*—1996.—404.—P. 565—575.
8. Waller G. R., West P. R., Cheng C. S., Ling Y. C., Chou C. H. The occurrence of soyasaponin I in *Vigna radiata* L. (mungbean) sprouts as determined by fast atom bombardment, liquid secondary ion mass spectrometry, and linked scanning at constant B/E MS/MS // *Bot. Bull. Acad. Sin.*—1993.—N 34.—P. 323—334.
9. Waller G. R., Jurzysta M., Thorne R. I. Z. Root saponins from alfalfa (*Medicago sativa* L.) and their allelopathic activity on weeds and wheat // *Allelopathy J.*—1995.—2, N 1.—P. 21—30.
10. Chang-Hung C., Waller G. R., Cheng C. S., Yang C. F., Kim D. Allelochemical activity of naturally occurring compounds from mungbean (*Vigna radiata* L.) plants and their surrounding soil // *Bot. Bull. Acad. Sin.*—1995.—36.—P. 9—18.
11. Shvets S. A., Kintia P. K., Naibi M. A. Steroidal glycosides from *Petunia hybrida* L. seeds and their biological activity. Saponins used in traditional and modern medicine // *Adv. Exp. Med. and Biol.*—1996.—404.—P. 251—263.
12. Spinu K., Vorozhbit V., Grushko T., Kintia P., Skofertsa P., Bolova V. Antiviral activity of Tomatoside from *Lycopersicon esculentum* Mill. Saponins used in traditional and modern medicine // *Adv. Exp. Med. and Biol.*—1996.—404.—P. 505—511.
13. Физер Л., Физер М. Стероиды.—М.: Мир, 1964.—982 с.
14. Heftman E. Biochemistry of steroidal saponins and glycoalkaloids // *Lloydia.*—1967.—30.—P. 209.
15. Гацура В. В., Кудрин А. Н. Сердечные гликозиды в комплексной терапии недостаточности сердца.—М.: Медицина, 1983.—204 с.
16. Рыфф И. М., Кренкова Л. В., Арзамасцева Е. В., Руджанская А. Ф., Пучкова В. А., Петрусенко А. Н. Патоморфологические критерии антиатеросклеротического действия сапонинов растительного происхождения в эксперименте // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.*—1988.—№ 9.—С. 365—368.
17. Кемертилидзе Э. П., Пхеидзе Т. А., Качухашвили Т. Н., Умикашвили Р. С., Турова А. Д., Соколова Л. Н. Новый антисклеротический препарат трибуспонин // *Хим.-фарм. журн.*—1982.—№ 1.—С. 119—121.
18. Costello C. E. Application of tandem mass spectral approaches to structural determinations of saponins. Saponins used in food and agriculture // *Adv. Exp. Med. and Biol.*—1996.—405.—P. 317—331.
19. Lee M. K., Ling Y. C., Jurysta M., Waller G. R. Saponins from alfalfa, clover, and mungbeans analyzed by electrospray ionization mass spectrometry as compared with positive and negative FAB-mass spectrometry. Saponins used in food and agriculture // *Adv. Exp. Med. and Biol.*—1996.—405.—P. 353—364.
20. Maillard M. P., Hostetmann K. Determination of saponins in crude plant extracts by liquid chromatography mass spectrometry // *J. Chem.*—1993.—647, N 1.—P. 137—146.
21. Macfarlane R. D., Hu Z.-H., Song S. 252-Cf-Plasma desorption mass spectrometry. II-A perspective of new directions // *Biol. Mass spectrom.*—1994.—23.—P. 117—130.
22. Сундквист Б. У. Р. Плазменно-десорбционная масс-спектрометрия. Изучение механизма десорбции и возможности применения // *Биоорг. химия.*—1991.—17, № 10.—С. 1313—1328.
23. Sukhodub L. F. Soft-ionization mass spectrometry of deoxynucleoside bioclusters and deoxynucleoside-antitumor medicinal preparation clusters // *Mass Spectrometry Revs.*—1995.—N 4.—P. 235—254.
24. Пилипенко В. В., Аксьонов С. О., Калинкевич О. М., Суходуб Л. Ф. Вивчення взаємодії сапонинів з амінокислотами методом плазменно-десорбційної мас-спектрометрії // *П'зд УБФТ: Тези доп.*—Харків, 1998.—С. 60.
25. Калининченко Т. Г., Аксенов С. А., Чиванов В. Д., Суходуб Л. Ф. Аналитические возможности времяпролетного биохимического масс-спектрометра МСБХ с ионизацией осколками деления ^{252}Cf на примере исследования стероидных гликозидов растительного происхождения // *Науч.-техн. конф. «Техника и физика электронных систем и устройств»:* Тез. докл.—Сумы, 1995.—С. 25.
26. Горчакова Н. А., Самарская Т. Г., Самарский В. А., Изина Г. Г., Грищенко Л. И., Бабак В. В. Комплексообразование сердечных гликозидов с аминокислотами и щелочными металлами // *Фармакология и токсикология.*—1992.—№ 27.—С. 106—109.
27. Литвинов В. Б. Нерцепторная регуляция метаболизма клетки аминокислотами и липидами // *Фармакология и токсикология.*—1992.—№ 27.—С. 82—85.
28. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Леман И. Основы биохимии.—М.: Мир, 1981.—Т. 2.—С. 543—1152.

УДК 577.3

Надійшла до редакції 23.12.98